

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

LES EFFETS DE L'INFILTRATION LIPIDIQUE SUR
LES FONCTIONS MUSCULAIRES

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN KINANTHROPOLOGIE

PAR
FRANÇOIS CHABOT

NOVEMBRE 2015

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.07-2011). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet, et plus particulièrement:

Dr. David H. St-Pierre de qui j'ai beaucoup appris. Merci de m'avoir fait confiance tout au long de mon cheminement ainsi que de m'avoir guidé et conseillé dans ce projet.

Jocelyne Mercier et Annie Tardif pour votre disponibilité, votre patience, votre gentillesse et pour m'avoir fait profiter de votre grande expertise en laboratoire.

Drs. Alain-Steve Comtois, Gawiyou Danielou et Gilles Gouspillou pour tous vos précieux conseils et commentaires au cours de ce projet.

Jean-Philippe Leduc-Gaudet pour ton aide et ta franchise ainsi que David Andrich, avec qui j'ai passé de nombreuses heures à développer le protocole d'extraction musculaire.

Je tiens finalement à remercier le Conseil de Recherches en Sciences Naturelles et en Génie du Canada (CRSNG), le Fond de Recherche du Québec- Nature et Technologies (FRQNT), Diabète Québec et la Faculté des sciences de l'UQÀM pour m'avoir attribué des bourses d'excellence au cours de ma maîtrise. Ce projet est par ailleurs financé par une subvention à la découverte du CRSNG.

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements	ii
Table des matières	iii
Liste des figures	vi
Liste des tableaux	vii
Liste des abréviations	viii
Résumé	xi
CHAPITRE I	
INTRODUCTION	1
1.1 Contexte général	1
1.2 Objet de la recherche	2
1.3 Problématique	2
1.4 Objectifs	4
1.5 Hypothèse	5
1.6 Limites	5
1.7 Importance	6
CHAPITRE II	
REVUE DE LA LITTÉRATURE	7
2.1 Contrôle de la balance énergétique	7
2.2 Métabolisme des lipides	9
2.3 Tissu adipeux	11
2.4 Protéines découplantes	13
2.5 Différenciation de myocyte en phénotype adipocytaire	14
2.6 Facteurs de transcription PPAR γ	15
2.7 PPARgamma coactivateur 1 alpha	16
2.8 Infiltration lipidique dans le muscle squelettique	17

2.9	Paradoxe de l'athlète	19
2.10	Stress oxydatif.....	20
2.11	Muscle squelettique.....	23
2.12	Structure du muscle squelettique	23
2.13	Contraction musculaire	24
2.14	Protéine <i>Alpha-Actinine</i>	26
2.15	Types de fibres musculaires.....	26
2.16	Modification du type de fibres musculaires	28
2.17	Importance clinique des propriétés musculaires	29
CHAPITRE III		
MÉTHODOLOGIE.....		31
3.1	Conditions (variables indépendantes)	31
3.1.1	Le schéma expérimental.....	32
3.2	Mesures (variables dépendantes)	33
3.3	Procédures	34
3.3.1	Diètes.....	34
3.3.2	Animaux et cages métaboliques.....	34
3.3.3	Extractions musculaires et tests de contractilité.....	35
3.3.4	Analyse quantitative de l'expression génique (RT-qPCR)	37
3.3.5	Imagerie par spectrométrie de masse	40
3.3.6	Analyses statistiques	40
CHAPITRE IV		
RÉSULTATS		41
4.1	Mesures anthropométriques des animaux et données métaboliques.....	41
4.1.1	Poids des animaux et aires transversales des muscles	41
4.1.2	Prise alimentaire et apports caloriques.....	42
4.1.3	Ratio d'échange respiratoire	43
4.1.4	Activité physique volontaire	44
4.1.5	Aires transversales des muscles	46

4.2	Propriétés contractiles des muscles EDL et SOL.....	47
4.2.1	Force-fréquence absolue	47
4.2.2	Force-fréquence spécifique	48
4.2.3	Fatigue musculaire	50
4.2.4	Récupération musculaire.....	52
4.3	Expressions d'ARNm	54
4.4	Imagerie par spectrométrie de masse MALDI	55
CHAPITRE V		
DISCUSSION		57
5.1	Données métaboliques	57
5.2	Performance musculaire.....	60
5.3	Accumulation lipidique intramusculaire	64
5.4	Transport, oxydation et métabolisme des acides gras	67
CHAPITRE VI		
SOMMAIRE ET CONCLUSION		71
ANNEXES		76
Annexe A : composition de la diète conventionnelle.....		76
Annexe B : composition de la diète obésogène		77
RÉFÉRENCES.....		78

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1: Composantes de la dépense énergétique	8
Figure 2.2: Structure des adipocytes	12
Figure 2.3: Protéine découplante.....	13
Figure 2.4: Résistance à l'insuline dans le muscle squelettique.....	18
Figure 2.5: Effets des ROS sur la production de force..	21
Figure 2.6: Structure du muscle squelettique.....	24
Figure 3.1: Devis expérimental :	32
Figure 4.1: Évolution du poids.....	42
Figure 4.2: Prise alimentaire	43
Figure 4.3: Ratio d'échange respiratoire	44
Figure 4.4: Activité physique volontaire.....	46
Figure 4.5: Aire transversale :	47
Figure 4.6: Force absolue générée	48
Figure 4.7: Force-fréquence spécifique du muscle EDL	49
Figure 4.8: Force-fréquence spécifique du muscle SOL.....	50
Figure 4.9: Diminution de force.....	51
Figure 4.10: Courbes de fatigue du muscle EDL et SOL	52
Figure 4.11: Pourcentage de récupération de la force initiale.....	53
Figure 4.12: Courbes de récupération du muscle EDL et SOL.....	54

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 3.1: Contrôles endogènes	38
Tableau 3.2: Liste des gènes analysés.....	39
Tableau 4.1: Mesures anthropométriques	41
Tableau 4.2: Expression des gènes des muscles SOL et EDL	55
Tableau 4.3: Contenu en triglycérides du muscle SOL.....	56

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACS	Acyl-CoA synthétase
ACTN3 α	Alpha-actinine-3
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNc	Acide désoxyribonucléique complémentaire
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	Acide ribonucléique messenger
AGL	Acide gras libre
AP	Activité physique
ATGL	<i>Adipose Tissue Triacylglycerol Lipase</i>
ATP	Adénosine triphosphate
ATPase	Adénosine triphosphatase
C/EBP	<i>CCAAT-enhancer binding protein</i>
CPT I, II	Carnitine O-palmitoyltransférase I, II
DAG	Diacylglycérol
DGAT	Diacylglycérol acyltransferase
EDL	<i>Extensor Digitorum Longus</i>
FABP	<i>Fatty Acid Binding Protein</i>
FAT/CD36	<i>Fatty Acid Translocase/ Cluster of differentiation 36</i>

FATP	<i>Fatty Acid Transport Protein</i>
HSL	<i>Hormone-Sensitive Lipase</i>
HMBS	Hydroxymethylbilane Synthase
IR	Insulinorésistance
IRS-1	<i>Insulin Receptor Substrate-1</i>
LC-CoA	<i>Long Chain CoA</i>
LPL	Lipoprotéine Lipase
MB	Métabolisme de base
OXPHOS	Phosphorylation oxydative
PGK1	Phosphoglycerate Kinase 1
PKB	Protéine Kinase B
PKC	Protéine Kinase C
PLA 1, 2	Phospholipase A1, 2
RDC	Rats du groupe sous diète conventionnelle
RDO	Rats du groupe sous diète obésogène
RER	Ratio d'échange respiratoire
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
PGC-1 α	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator -1alpha</i>
PI3K	Phosphatidylinositol 3 kinase
PPAR- γ	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i>

SOL	<i>Soleus</i>
SREBP-1c	<i>Sterol respond element binding protein 1C</i>
TAC	Thermogénèse des aliments consommés
TG	Triglyceride
UCP1, 2, 3	<i>Uncoupling Protein 1, 2, 3</i>
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>

RÉSUMÉ

INTRODUCTION: Les régimes alimentaires riches en calories, la consommation de lipides saturés et la sédentarité sont intimement associés au développement de l'obésité et des dysfonctions métaboliques tels la stéatose hépatique, la résistance à l'insuline, le diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires. D'autre part, une accumulation excessive de lipides dans des tissus ectopiques tels que le cœur, le rein, le foie et les muscles induirait un certain nombre de désordres métaboliques. Dans le muscle squelettique, l'accumulation excessive de lipides est soupçonnée de favoriser la résistance à l'insuline et de réduire la force de contractilité maximale du muscle. Cependant, les mécanismes sous-jacents à cette accumulation lipidique sont encore mal définis. **OBJECTIF:** Évaluer les effets d'une diète obésogène sur les propriétés contractiles et les fonctions musculaires chez de jeunes rats. **MÉTHODE :** 16 rats Wistar (environ 150g) logés individuellement dans des cages métaboliques ont été répartis aléatoirement en deux groupes, l'un consommant une diète conventionnelle (RDC) et l'autre une diète obésogène (60% lipides) (RDO) pendant 14 jours. Les fonctions musculaires (système de contractilité), le contenu en triglycérides (imagerie par spectrométrie) et l'expression génique (RT-qPCR) ont ensuite été évalués. **RÉSULTATS:** La force maximale générée par le muscle EDL a été réduite de 9,45% pour le groupe RDO ($p<0,01$) et de 10,98% pour le muscle SOL. Le niveau de triglycérides intramusculaires au niveau du muscle SOL a été multiplié par un facteur de 4,52 fois. **CONCLUSION :** Chez de jeunes rats en période de croissance, une diète de 14 jours riche en lipides altère les propriétés contractiles au niveau des muscles EDL et SOL en plus d'augmenter le contenu en triglycérides.

MOTS CLÉS : Diète obésogène, Muscles squelettiques, Infiltration lipidique, Fonctions musculaires, Propriétés contractiles, Maladies métaboliques, Obésité

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1.1 Contexte général

Les troubles de santé associés à l'obésité et aux diverses maladies métaboliques sont des problèmes majeurs de santé publique au niveau mondial, et malheureusement, la population canadienne n'échappe pas à ce fléau. En effet, selon la plus récente *Enquête canadienne sur les mesures de la santé* (ECMS), effectuée de 2012 à 2013, plus de 62% des canadiens de 18 à 79 ans ont un surplus pondéral (IMC entre 25 et 29,9 kg/m²) ou sont obèses (IMC >30 kg/m²). Il est encore plus inquiétant de constater, selon la même enquête, que la proportion d'enfants et de jeunes de 5 à 17 ans qui sont considérés en surpoids ou obèses s'élève maintenant à près de 31%. Face à ces taux alarmants, qui sont en constante croissance au fil des ans, il est impératif de réagir rapidement puisque dans la plupart des cas, cette obésité tendra à se maintenir durant l'âge adulte et contribuera au développement de diverses maladies métaboliques chroniques, telles que la résistance à l'insuline, la stéatose hépatique, les dyslipidémies, le diabète, certains cancers ou encore les maladies cardiovasculaires (Brawer et al., 2009, Haslam and James, 2005).

Malgré de nombreux efforts de la part des chercheurs pour tenter de prévenir et résoudre ces problèmes, force est de constater que la pathogénèse de ces troubles du métabolisme demeurent encore très complexes, ne se résumant pas simplement à un manque d'activité physique ou encore à une prise alimentaire excessive. Effectivement, bien que ces deux facteurs occupent des rôles très importants dans le processus d'obésité et le développement de maladies métaboliques, plusieurs études récentes

suggèrent que ces différents problèmes seraient également liés à des facteurs hormonaux, génétiques, environnementaux, comportementaux ainsi qu'aux effets métaboliques de différents substrats énergétiques consommés. Tous ces facteurs influencent, à leur façon, le contrôle de la balance énergétique ainsi que l'accumulation de gras dans l'organisme.

1.2 Objet de la recherche

Le présent projet de recherche consiste à évaluer les effets d'une diète obésogène sur les fonctions musculaires chez des jeunes rats ainsi qu'à mieux comprendre les mécanismes précoces sous-jacents à l'étiologie de l'infiltration lipidique dans le muscle squelettique.

1.3 Problématique

Pendant longtemps, les tissus adipeux étaient presque uniquement considérés pour leur fonctions de stockage des acides gras dans l'organisme. Toutefois, grâce à de récentes avancées sur le sujet, ils sont maintenant reconnus comme étant des organes capables de régulariser plusieurs fonctions vitales tels que la dépense énergétique, la prise alimentaire, les fonctions inflammatoires et certains effets neuroendocriniens (Medina-Gomez and Vidal-Puig, 2009) pour ne nommer que ceux-ci. Cependant, une accumulation excessive de lipides dans des organes ou tissus ectopiques peut avoir des effets indésirables sur les fonctions cellulaires, tels qu'une détérioration de la signalisation des récepteurs à l'insuline (Antuna-Puente et al., 2008, Boren et al., 2013). Par ailleurs, des accumulations lipidiques dans des tissus musculaires ont déjà

été observées (Boren et al., 2013), sans toutefois connaître les effets de celles-ci sur les fonctions musculaires et les propriétés contractiles des muscles squelettiques.

Une augmentation significative de la concentration hépatique de triglycérides a déjà été observée chez des rats consommant une diète riche en matières grasses durant deux semaines (Collin et al., 2006). Cependant, dans les tissus musculaires, les effets d'une diète obésogène sur l'étiologie de l'accumulation de lipides et sur les propriétés contractiles n'ont pas encore été démontrés. De nombreux éléments suggèrent cependant que cette infiltration de lipides dans les tissus ectopiques peut jouer un rôle important dans le développement des troubles métaboliques et même réduire la force de contractilité musculaire. En effet, des cellules satellites pluripotentes retrouvées au niveau des fibres musculaires possèdent la capacité de se différencier en adipocytes (Scarda et al., 2010), démontrant que le tissu musculaire est capable d'augmenter considérablement sa capacité d'accumulation de lipides. De plus, il est maintenant bien reconnu qu'un remodelage des fibres musculaires est observé suite à certains types d'activités physiques (Wilson et al., 2012) ou suite à la consommation de certains substrats énergétiques (Grichko et al., 2000). Or, une diminution des fibres musculaires oxydatives combinée à une augmentation des fibres glycolytiques est étroitement associée à l'obésité ainsi qu'à l'altération de la voie de signalisation à l'insuline (Tanner et al., 2002).

Tenant ainsi compte de ces derniers éléments, ce présent projet de recherche permettra de mieux comprendre de nombreuses interrogations quant à l'étiologie de l'accumulation lipidique dans le muscle squelettique et ses effets sur la force de contraction, sur la résistance à la fatigue lors d'efforts intenses et prolongés et sur la capacité de récupération. Ces nouvelles connaissances permettront également de mieux cibler certains mécanismes précoces d'accumulation lipidique dans le muscle

squelettique et leurs influences sur les différentes expressions géniques ainsi que la performance musculaire.

1.4 Objectifs

L'objectif principal de ce projet de recherche est de mieux comprendre les effets liés à une accumulation excessive de lipides dans les muscles squelettiques chez de jeunes rats sur les fonctions musculaires. De façon plus spécifique, ce projet vise principalement à (1) évaluer l'impact fonctionnel d'une accumulation lipidique intracellulaire sur les propriétés contractiles et (2) proposer des pistes afin d'identifier certains mécanismes sous-jacents à cette accumulation lipidique en évaluant, de façon préliminaire, le contenu lipidique et les niveaux d'expressions géniques des muscles squelettiques.

Pour ce faire, nous évaluerons d'abord chez de jeunes rats (150g) les effets de 14 jours d'une diète obésogène sur l'accumulation de lipides et leurs conséquences sur l'activité physique volontaire, la dépense énergétique ainsi que la composition corporelle. Par la suite, les fonctions musculaires seront évaluées afin de mieux décrire les phénomènes physiologiques affectant les propriétés contractiles. Finalement, des possibilités de mécanismes contrôlant la dépense énergétique, l'infiltration de lipides et la performance musculaires seront proposées suite à des analyses préliminaires du contenu lipidique et de l'expression de certains gènes.

1.5 Hypothèse

Lors d'une consommation de deux semaines d'une diète obésogène, nous pensons qu'une quantité importante des lipides ingérés s'accumulera de façon excessive dans les muscles squelettiques. Cette accumulation ectopique de lipides amènera ainsi une modification de l'expression des différents gènes impliqués dans la performance musculaire, la différenciation adipocytaire, le transport des acides gras et dans l'oxydation des acides gras. Cette accumulation excessive de lipides dans le muscle réduira également la force de contractilité, diminuera la résistance à la fatigue suite à des efforts intenses et prolongés et augmentera le temps de récupération nécessaire au muscle pour retrouver ses capacités optimales.

Tout d'abord, la consommation d'une diète obésogène devrait stimuler l'hypertrophie des tissus adipeux et promouvoir l'accumulation de lipides dans le muscle squelettique chez les rats (Boren et al., 2013). Suite à cette accumulation, nous émettons les hypothèses qu'il y aura 1) une diminution de la performance musculaire, qui se traduira par une force de contractilité maximale atténuée, une résistance plus faible à la fatigue et une moins bonne capacité de récupération suite à un effort. Nous nous attendons également à voir 2) une augmentation significative de TG intramusculaire et finalement 3) une surexpression des gènes impliqués dans les différentes fonctions des adipocytes et dans le contrôle de l'accumulation lipidique.

1.6 Limites

Il est important de rester conscient que ce présent projet utilisera des tissus musculaires de rats. Bien que ce modèle animal soit bien reconnu dans la littérature pour étudier

les effets des diètes obésogènes (Reuter, 2007), il nous permettra uniquement d'émettre des hypothèses de recherche qui devront par la suite être validées sur des modèles humains.

Les expériences seront également effectuées uniquement sur des rats mâles de la lignée Wistar. Ce choix de sexe des sujets vise à simplifier le modèle étudié, sachant que le système hormonal comporte des différences notables entre les mâles et les femelles. De plus, il faudra tenir compte de l'âge des animaux puisque cette étude s'effectuera chez de jeunes rats qui seront en période de croissance. Finalement, il faudra prendre en considération la nature des lipides et leur composition dans la diète offerte aux animaux.

1.7 Importance

Ces nouvelles connaissances devraient permettre de mieux comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires associés à l'utilisation des substrats énergétiques et à l'accumulation de lipides dans le muscle squelettique. De plus, l'étude des mécanismes de l'obésité et des désordres métaboliques chez l'homme permettra de développer une meilleure compréhension de l'utilisation des substrats énergétiques au niveau musculaire tout en permettant de suggérer certaines pistes thérapeutiques contre le développement des maladies métaboliques. Ultimement, ces éléments pourront s'appliquer tout aussi bien à la performance sportive qu'à l'amélioration de la qualité des viandes de consommation.

CHAPITRE II

REVUE DE LA LITTÉRATURE

Dans un premier temps, la revue de littérature qui suit définira de nombreux concepts physiologiques et anatomiques afin d'introduire les diverses notions impliquées dans la réalisation du présent projet de recherche. De plus, cette section permettra d'obtenir une bonne représentation des différentes découvertes, études et recherches déjà réalisées à ce jour en lien avec ce projet de recherche.

2.1 Contrôle de la balance énergétique

La régulation de la balance énergétique par l'organisme tient compte du bilan entre l'apport calorique lors d'une prise alimentaire et la dépense énergétique. La prise alimentaire peut être influencée par de nombreux facteurs, tels que la disponibilité des aliments, les réserves énergétiques sous forme de tissus adipeux ou de glycogène, les facteurs psychologiques et sociaux et même par des médiateurs neuroendocriniens, qui sont également des facteurs clés de l'absorption des nutriments. C'est entre autre le cas de la ghréline, une hormone peptidique orexigène qui joue un rôle sur la prise alimentaire en augmentant la sensation de faim et de la prise alimentaire (Tschop et al., 2000).

Quant à elle, la dépense énergétique est majoritairement influencée par trois composantes majeures (Figure 2.1): 1) le métabolisme de base (MB), 2) la thermogénèse des aliments consommés (TAC) ainsi que 3) la dépense énergétique

reliée à l'activité physique (AP). Ces trois composantes représentent respectivement environ 70%, 10% et 20% de la dépense énergétique (Pinheiro Volp et al., 2011).

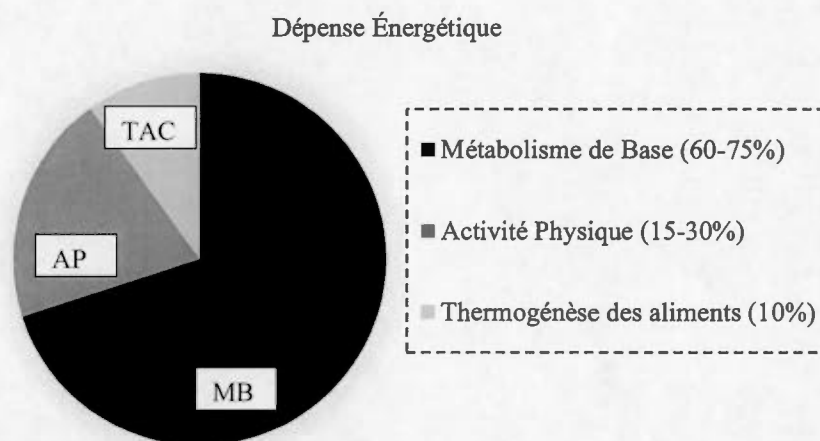


Figure 2.1: Composantes de la dépense énergétique

Le MB, qui consiste la quantité minimale d'énergie requise pour le maintien des fonctions vitales, est grandement variable en fonction du poids, de la masse maigre, de l'ethnicité ou encore des habitudes de vie, pour ne nommer que ces facteurs (Pinheiro Volp et al., 2011). Malgré tout, le MB demeure la principale composante de la dépense énergétique totale. Pour sa part, la TAC, qui correspond à une augmentation de la consommation d'oxygène et de la production de chaleur suite à l'ingestion de nutriments, est majoritairement influencée par la composition de la diète, variant de 0 à 3% pour les lipides, de 5 à 10% pour les glucides et de 20 à 30% pour les protéines (Tappy, 1996). D'autres facteurs comme la grosseur des repas, la palatabilité de la diète ou même l'activité physique jouent également un rôle sur l'effet thermique des aliments (de Jonge and Bray, 1997). Finalement, l'activité physique est une composante variant grandement d'un individu à un autre en fonction du mode de vie et du niveau de sédentarité. Cette valeur correspond plus précisément à toute forme

d'activité physique qui ne sert pas au maintien des fonctions vitales (de Jonge and Bray, 1997).

L'homéostasie du métabolisme énergétique est ainsi assuré par un équilibre entre l'apport calorique et la dépense énergétique. Un déséquilibre du bilan énergétique peut mener à une perte de poids, lorsque le bilan est négatif et que la prise alimentaire est inférieure à la dépense énergétique. En contrepartie, l'obésité résulte d'un bilan énergétique positif. Dans ce dernier cas, l'excès d'énergie est principalement emmagasiné sous forme de triglycérides (TGs) dans les tissus adipeux (adipocytes) de l'organisme.

2.2 Métabolisme des lipides

Suite à une prise alimentaire, l'énergie nécessaire au fonctionnement de l'organisme provient majoritairement des lipides et des glucides ingérés. Parmi ces lipides, nous retrouvons entre autre des phospholipides, des stérols tels que le cholestérol et des TGs. Cette dernière représente la forme la plus prépondérante, fournissant 90% à 95% de l'énergie totale dérivée des lipides (Iqbal and Hussain, 2009).

Tout d'abord, afin d'être absorbés par les entérocytes de l'intestin grêle, les TGs alimentaires doivent être hydrolysés, grâce à des lipases pancréatiques, en acides gras et en monoglycéride (Kersten, 2014). Des phospholipases pancréatiques, dont A1 (PLA1) et A2 (PLA2), ainsi que des cholestérol estérases permettent à leur tour l'hydrolyse respective des phospholipides et des cholestérols pour en libérer les acides gras et le cholestérol sous forme libre (Phan and Tso, 2001). Ces acides gras devront

ensuite être absorbés par des transporteurs membranaires, dont les *Fatty Acid Transport Protein (FATP)* et *Fatty Acid Translocase/ Cluster of Differentiation 36 (FAT/CD36)* et transportés jusqu'au réticulum endoplasmique lisse, où des enzymes permettront une ré-estérification des acides gras et des monoglycérides pour reformer des TGs. Cette réaction s'effectue majoritairement grâce aux actions consécutives des enzymes *monoacylglycerol acyltransferases*, qui permet de former dans un premier temps des diacylglycérols (DAG), et *diacylglycerol acyltransferase (DGAT)*, qui synthétisera pour sa part les TGs (Iqbal and Hussain, 2009). Les TGs devront ensuite être emmagasinés dans des lipoprotéines, plus particulièrement dans des chylomicrons et des lipoprotéines de très faibles densités (Very Low Density Lipoprotein, VLDL), afin de quitter les cellules de la paroi intestinale et être transportés vers les différents tissus de l'organisme (Giammanco et al., 2015). Pour leur part, les surplus de glucides consommés lors d'une prise alimentaire seront également convertis en acides gras puis en TGs lors d'une réaction majoritairement produite dans le foie, appelée lipogenèse *de novo* (Hellerstein, 1999). Cette réaction permet la sécrétion de lipoprotéines, essentiellement constituée de TGs, dans l'organisme (Giammanco et al., 2015).

Lors d'une demande en énergie, un processus d'hydrolyse des triglycérides, appelé la lipolyse, sera engendré par des enzymes tels que l'*Hormone-Sensitive Lipase (HSL)* (Holm, 2003), l'*Adipose Tissue Triacylglycerol Lipase (ATGL)* (Zimmermann et al., 2004) et la *Lipoprotéine Lipase (LPL)*. Cette dernière est une enzyme qui se retrouve à la surface endothéliale des capillaires sanguins, surtout au niveau des tissus adipeux, du cœur et des muscles squelettiques, et est essentielle au processus de lipolyse extracellulaire grâce à sa capacité d'hydrolyser les lipoprotéines plasmatique riches en TGs tout en jouant un rôle de ligand facilitant la captation cellulaires des lipoprotéines (Samuel and Shulman, 2012). Une fois activée, la réaction de lipolyse permet aux tissus adipeux de libérer des acides gras libres (*AGLs*) dans la circulation, qui seront par la suite captés par des transporteurs spécifiques afin de répondre à la demande énergétique

des différents tissus de l'organisme, dont le muscle squelettique. Les AGLs seront ainsi captés par ces différents tissus par l'entremise de récepteurs et transporteurs membranaires et intracellulaires, tels que les *FATP* et *FAT/CD36* (Consitt et al., 2009). Dans la circulation, les AGLs à longues chaînes doivent être liés à des protéines telles que l'albumine et par des *Fatty Acid Binding Protein (FABP)* dans les cellules (Bonen et al., 1999).

Une fois dans le sarcoplasme, l'enzyme Acyl-CoA synthétase (*ACS*) permet une estérification des AGLs afin de former des *Long Chain CoA (LC-CoA)* (Suzuki et al., 1990). Ces derniers pénètrent tout d'abord les membranes externes et internes des mitochondries avec l'aide des enzymes carnitine O-palmitoyltransférase (*CPT*) I et II respectivement, ainsi que la carnitine acyltransférase, afin d'être dégradés par la β -oxydation (Jeukendrup, 2002). Cette réaction cyclique permet de raccourcir les chaînes de carbones des Acyl-CoA de deux atomes de carbone par cycle, libérant à chaque fois une molécule d'Acétyl-CoA, une molécule de flavine adénine dinucléotide (FADH_2) et une molécule de nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH) (Consitt et al., 2009). La molécule d'Acétyl-CoA sera alors principalement dégradée par le cycle de l'acide citrique, notamment connu sous le nom de cycle de Krebs, tandis que le FADH_2 et NADH permettront de produire de l'énergie grâce à la chaîne de transport d'électrons.

2.3 Tissu adipeux

Dans l'organisme, nous retrouvons des adipocytes blancs, contenant une seule gouttelette lipidique (uniloculaire) capable d'accumuler une quantité importante de TG et un nombre restreint de mitochondries (Figure 2.2). Par ailleurs, ces adipocytes situés majoritairement dans les régions inguinales, épидидymaires et périrénales, produisent

et secrètent de nombreuses hormones, appelées « adipokines », qui agissent sur l'ensemble de l'organisme de manière paracrine et endocrine. C'est entre autre le cas de la leptine, une hormone anorexigène sécrétée par les adipocytes, qui régule le métabolisme en jouant un rôle important sur la prise alimentaire et la dépense énergétique (Lee et al., 2013, Fantuzzi, 2005). Bien que le tissu adipeux ait longtemps été considéré comme un lieu de stockage inerte pour les acides gras, nous constatons actuellement qu'il agit comme un organe métaboliquement actif en influençant, entre autre, la prise alimentaire, la balance énergétique, l'action de l'insuline, le métabolisme lipidique et glycolytique ou encore la pression sanguine (Lee et al., 2013).

Quant à eux, les adipocytes bruns, qui sont surtout reconnus pour leurs fonctions de thermogénèse dans l'organisme (Diaz et al., 2014), contiennent plusieurs gouttelettes lipidiques de volume inférieur à celle de l'adipocyte blanc et un nombre important de mitochondries (Figure 2.2).

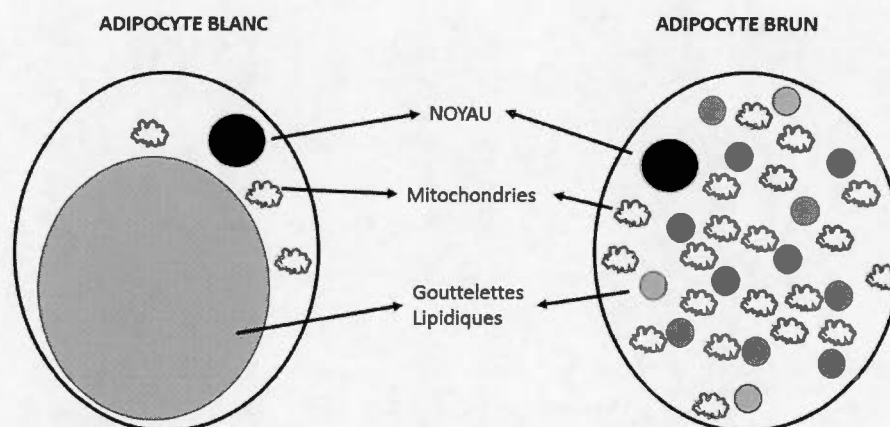


Figure 2.2: Structure des adipocytes

2.4 Protéines découplantes

Les adipocytes bruns sont caractérisées par la présence de protéines de découplage de type 1, *Uncoupling Protein 1 (UCP1)* (Krauss et al., 2005), situées dans la membrane mitochondriale interne, dont l'activité est significativement augmentée suite à une exposition au froid. Ces protéines, responsables de la réduction de la production d'adénosine triphosphate (*ATP*), régulent le passage des protons dans la matrice mitochondriale interne en contournant l'étape de l'ATP synthase, créant ainsi un gradient électrochimique dont l'énergie se dissipera en chaleur au lieu de servir à la synthèse d'ATP (Diaz et al., 2014) (Figure 2.3).

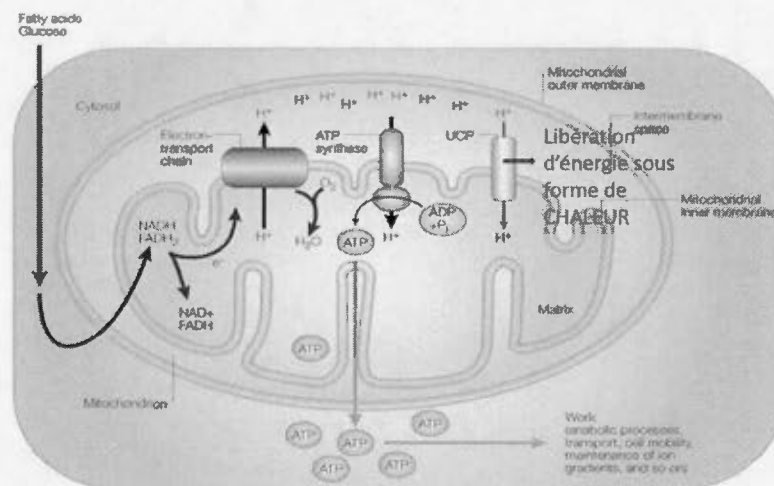


Figure 2.3: Protéine découplante (UCP) adaptée de (Krauss et al., 2005)

D'autres protéines découplantes homologues (dont *UCP2* et *UCP3*) ont également été identifiées (Gimeno et al., 1997, Krauss et al., 2005) de façon prédominante dans le

muscle squelettique et dans de nombreux autres tissus; toutefois leurs effets demeurent encore mal compris. Somme toute, l'activation d'UCP3 semble positivement affectée par les produits de la peroxydation des lipides et permettrait de contrer le stress oxydatif (Schrauwen et al., 2010). Tenant compte de leurs fonctions physiologiques de thermogénèse et leur rôle probable dans l'étiologie de nombreuses pathologies, ces protéines suscitent beaucoup d'intérêt et certains groupes les considèrent comme des cibles potentielles pour contrer l'obésité ou même le stress oxydatif. Effectivement, les protéines UCP du tissu adipeux brun utilisent le glucose et les acides gras pour la production de chaleur, réduisant ainsi la quantité de substrats disponibles pour le stockage dans les adipocytes.

2.5 Différenciation de myocyte en phénotype adipocytaire

Les adipocytes ainsi que les myocytes proviennent de cellules souches pluripotentes mésenchymateuses qui, suite à une première phase de détermination, se convertissent soit en lignée cellulaire d'adipoblastes ou encore de myoblastes (Timmons et al., 2007) et ce n'est que lors d'une seconde étape de différenciation que ces cellules se différencient respectivement en adipocytes blancs matures ainsi qu'en myocytes ou en adipocytes bruns. De prime abord, leur engagement vers l'une des voies de différenciation ne semblait pas permettre à ces cellules de se différencier ultérieurement en un autre type cellulaire (Dodson et al., 2010).

Toutefois, dans des conditions obésogènes, des cellules satellites pluripotentes situées dans le muscle squelettique ont démontré une capacité de se transdifférencier en cellules partageant des caractéristiques communes à celles des adipocytes, développant ainsi une capacité croissante d'accumulation de lipides (Starkey et al., 2011). Des

myoblastes C2C12 ainsi que des cellules satellites musculaires primaires en culture ont également démontré la capacité de se convertir en cellules avec un phénotype adipocytaire, en acquérant entre autre une morphologie reliée aux adipocytes et en activant certains gènes adipocytaires spécifiques (Teboul et al., 1995). Ce phénotype cellulaire favoriserait ainsi possiblement l'accumulation ectopique de lipides dans le muscle squelettique.

2.6 Facteurs de transcription PPAR γ

Le processus d'adipogenèse requiert l'implication et l'activation de plusieurs familles de facteurs de transcription, dont les *Sterol respond element binding protein 1C* (SREBP-1c), les *CCAAT-enhancer binding protein* (C/EBP) et les *proliferator-activated receptor* (PPAR). Bien que ces trois grandes familles aient des influences marquantes dans le processus de différenciation adipocytaire, les récepteurs activés par les proliférateurs de peroxysomes *gamma* (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR γ) semblent jouer un rôle central (Rosen et al., 1999). Ce facteur de transcription, activé par une augmentation des niveaux d'acides gras dans l'organisme, est par ailleurs fortement impliqué dans la différenciation adipocytaire de fibroblastes en culture (Wahli et al., 1995) et pourrait être impliqué dans le processus de transition des lignées cellulaires de myoblastes vers des adipoblastes (Teboul et al., 1995).

PPAR γ est majoritairement exprimé dans les tissus adipeux et régularise l'expression de nombreux gènes impliqués dans le métabolisme des glucides et des lipides, tels que *ACS*, *LPL*, *FATP-1*, *CD36* ou encore les *UCP* (Berger and Moller, 2002). De plus, au niveau du contrôle de l'homéostasie énergétique, PPAR γ semble réguler la sécrétion de leptine, influençant ainsi la prise alimentaire (Kadowaki et al., 2002).

En ce qui concerne son expression dans le muscle squelettique, bien qu'il y soit moins fortement exprimé que dans les tissus adipeux, l'activation de PPAR γ semble avoir un effet positif contre le développement de la résistance à l'insuline induite par une diète riche en matière grasse. Une surexpression sélective de ce facteur de transcription chez des souris transgéniques est ainsi associée à une augmentation de la proportion de fibres musculaires oxydatives ainsi qu'une réduction du contenu lipidique des myocytes (Amin et al., 2010).

2.7 PPARgamma coactivateur 1 alpha

Le *peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator - 1alpha* (PGC-1 α), est un co-activateur transcriptionnel du récepteur nucléaire PPAR γ activement impliqué dans la modulation du métabolisme. Une surexpression de ce co-activateur au niveau du muscle squelettique permettrait d'augmenter les niveaux de plusieurs transporteurs, dont GLUT4 (Michael et al., 2001), améliorant ainsi la captation cellulaire du glucose, ou encore CPT1 (Vega et al., 2000) au niveau de la membrane mitochondriale, offrant un meilleur transport des AG dans les mitochondries et donc potentiellement une meilleure phosphorylation oxydative (OXPHOS). Dans un même ordre d'idée, l'amélioration des capacités d'oxydation des AG, de la biogénèse mitochondriale et des capacités de captation du glucose chez les athlètes d'endurance s'effectuerait ainsi par une modulation de l'expression de PGC-1 α (Russell et al., 2003). L'activité physique influencerait aussi très rapidement l'expression de ce co-activateur, tel qu'il a été observé chez des rats suite à une courte période de 5 jours d'entraînement (Baar et al., 2002).

Inversement, chez des personnes diabétiques de type 2 présentant une résistance à l'insuline, l'expression de PGC-1 α serait diminuée (Mootha et al., 2003). Cette

régulation négative de gènes impliqués dans la biogénèse mitochondriale est également observée lors d'une consommation de diète riche en matière grasse, menant ainsi potentiellement à une dysfonction des capacités mitochondriales (Sparks et al., 2005).

2.8 Infiltration lipidique dans le muscle squelettique

Dans les tissus adipeux, les adipocytes sont capables d'hyperplasie et d'hypertrophie afin de répondre à une demande excessive de stockage de TGs. Cependant, cette accumulation de lipides dans ces tissus adipeux est corrélée au développement de maladies métaboliques, telles que le diabète de type 2, ainsi qu'aux maladies cardiovasculaires (Lee et al., 2013). L'obésité et le diabète de type 2 sont également largement associés à une accumulation lipidique excessive dans des tissus ectopiques, comme le foie et le muscle squelettique, qui ont une capacité de stockage de lipides très limitée comparativement aux tissus adipeux (Boren et al., 2013). Cette accumulation excessive et l'exposition prolongée à des concentrations élevées de lipides crée une lipotoxicité dans les tissus ectopiques et est fortement associée à l'insulinorésistance (Martins et al., 2012). Effectivement, des études chez des sujets sains non diabétiques ont démontré que les niveaux de lipides intramusculaires étaient un indicateur de la résistance à l'insuline beaucoup plus fort que les niveaux d'AGLs plasmatique (Samuel and Shulman, 2012).

Les niveaux élevés d'AGLs plasmatiques, suite à la consommation d'une diète obésogène par exemple, sont malgré tout associés à l'augmentation de leur captation par les muscles squelettiques suite à une surexpression des transporteurs membranaires *FATP* et *FAT/CD36* ainsi que l'activité enzymatique de l'*ACS* (Kewalramani et al., 2010). Les AGLs sont ainsi estérifiés en LC-CoA, en TG ainsi qu'en d'autres intermédiaires lipidiques fortement impliqués dans la pathogénèse de la résistance à

l'insuline, tels que les céramides et les DAG (Kewalramani et al., 2010). L'augmentation des DAG dans le muscle squelettique mènerait à l'activation de la protéine Kinase C (*PKC*), protéine impliqué dans l'inhibition de la cascade de signalisation du récepteur à l'insuline. L'activation de *PKC* est associée à l'inhibition de la phosphorylation de l'*Insulin Receptor-Substrate 1* (*IRS-1*) et une diminution de l'activation de la voie phosphatidylinositol 3 kinase (*PI3K*) (Yu et al., 2002). Quant à eux, les céramides affecteraient directement l'activité de la protéine kinase B (*PKB*) résultant d'une diminution de la translocation du transporteur du glucose 4 (*GLUT 4*) (Figure 2.4) (Kewalramani et al., 2010). Puisque les muscles squelettiques sont responsables d'environ 80% de la captation du glucose dans l'organisme, ce dysfonctionnement au niveau des myocytes est ainsi considéré parmi les étapes initiales du développement de la résistance à l'insuline systémique et du diabète du type 2 (DeFronzo and Tripathy, 2009).

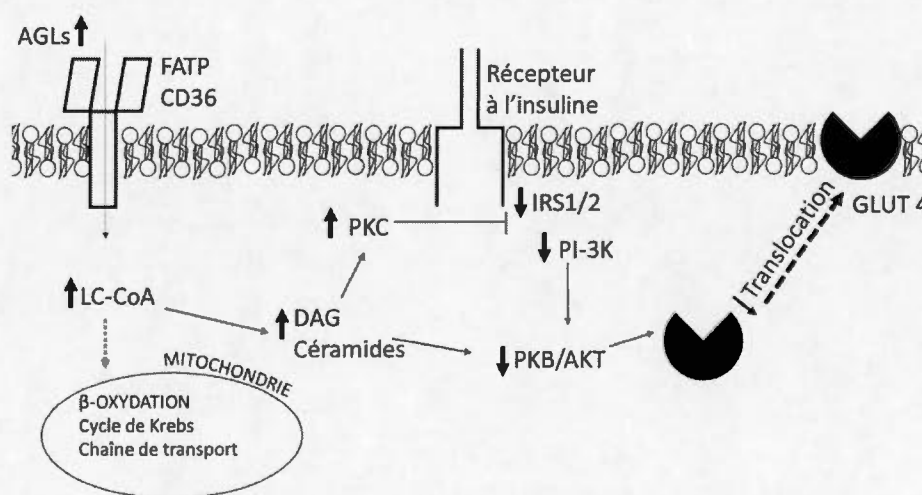


Figure 2.4: Résistance à l'insuline dans le muscle squelettique

Chez des patients obèses et diabétiques, certains groupes proposent que cette accumulation de lipides dans les myocytes soit accentuée par la diminution de la capacité d'oxydation des lipides suite à une dysfonction mitochondriale. Suite à ces dysfonctions, la réduction de l'activité de CPT 1 serait l'un des mécanismes responsable de cette faible oxydation des lipides en limitant la quantité de LC-CoA pouvant être transporté vers les mitochondries, augmentant par conséquent la quantité d'intermédiaires lipidiques responsable de l'insulinorésistance au niveau musculaire (Kelley and Goodpaster, 2001).

2.9 Paradoxe de l'athlète

Paradoxalement, bien que des élévations de TGs intramusculaires soient habituellement associées à la résistance à l'insuline et au développement du diabète de type 2, plusieurs athlètes de haut niveau possèdent une importante capacité de stockage de gras intramusculaire comparativement aux individus sédentaires (Goodpaster et al., 2001). Bien que les mécanismes sous-jacents à ce paradoxe soient encore peu compris, cette augmentation serait même bénéfique et améliorerait la sensibilité à l'insuline chez ces athlètes.

La grande capacité d'oxydation des lipides, causée par une augmentation de la β -oxydation pendant une activité physique, semble à première vue jouer un rôle important dans le maintien de la sensibilité à l'insuline des muscles squelettiques. Il a été démontré chez des souris sédentaires consommant une diète riche en lipides pendant 8 semaines qu'une surexpression de DGAT 1, une enzyme impliquée dans la synthèse des TGs, permettrait de reproduire cette augmentation de stockage lipidique dans le muscle (Liu et al., 2007). La surexpression de DGAT-1, dont l'expression est naturellement augmentée avec l'activité physique, permettrait ainsi d'augmenter les

niveaux de TGs intramusculaires tout en réduisant les niveaux de DAG et céramides, reproduisant ainsi ce paradoxe présent chez les athlètes. De plus, l'amélioration des capacités anti-oxydantes par le biais de la pratique régulière d'activité physique permettrait le maintien de la sensibilité à l'insuline, considérant qu'inversement, l'augmentation du stress oxydant et de la production mitochondriale de dérivés réactifs de l'oxygène (*Reactive Oxygen Species, ROS*), liés à une consommation d'une diète riche en matière grasse, contribuent activement au développement de l'insulinorésistance musculaire (Anderson et al., 2009).

Ce paradoxe démontre donc qu'une accumulation intramusculaire de TGs peut, dans un premier temps, être néfaste pour la voie de signalisation du récepteur à l'insuline et ainsi contribuer au développement d'une résistance à l'insuline dans des conditions obésogènes et de sédentarité. Cependant, ces mêmes TGs peuvent à l'inverse servir de sources importantes d'énergie métabolique facilement accessible chez les personnes actives.

2.10 Stress oxydatif

Au sein de l'organisme, des radicaux libres, sous forme de ROS, sont constamment produits par les mitochondries présentes dans les muscles squelettiques et provoquent, selon leur quantité, soit des effets bénéfiques, voir même protecteurs, ou bien des effets néfastes et altérant (Steinbacher and Eckl, 2015). La présence d'un certain niveau de ROS dans le muscle squelettique est cependant essentielle à la production d'une force musculaire maximale. Cependant, un déséquilibre de cet état optimal d'oxydoréduction, qu'il soit positif ou négatif, mène à une réduction de la production de force (Figure 2.5) (Reid, 2001). Le terme stress oxydatif fait ainsi référence à la

présence d'un déséquilibre entre cette production de ROS et les capacités anti-oxydantes de l'organisme (Powers et al., 2011).

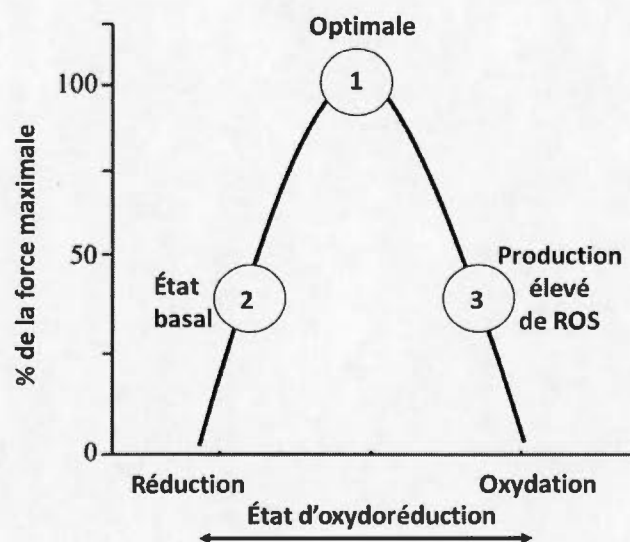


Figure 2.5: Effets des ROS sur la production de force. (1) Production de force maximale dans des conditions d'oxydoréduction optimales, c'est-à-dire lorsque le muscle est exposé à de bas niveaux de ROS. (2) Réduction de la production de force lorsque le muscle est en condition basale. (3) Les niveaux excessifs de ROS créent une réduction de la production de force. Adapté de (Reid, 2001).

Les ROS sont des molécules très instables qui cherchent activement à se lier à d'autres molécules en raison du fait qu'ils possèdent un ou plusieurs électrons célibataires. Lors d'un exercice physique, il est bien reconnu que les contractions musculaires augmentent le stress oxydatif en accentuant la production de ROS, causant ainsi des dommages musculaires menant à la fatigue (Davies et al., 1982) ainsi qu'à des dysfonctions musculaires (Steinbacher and Eckl, 2015). L'une des possible raisons de

cette altération de la force musculaire serait que l'exposition prolongée des myofilaments à de hauts niveaux de ROS causerait un dysfonctionnement des protéines contractiles, plus particulièrement via l'oxydation des chaînes lourdes de myosine (Yamada et al., 2006).

D'autre part, la surabondance de substrats énergétiques liés à la consommation d'une diète hyper lipidique augmenterait l'accumulation de lipides dans les tissus ectopiques, dont le muscle squelettique, et favoriserait une production excessive de ROS menant à un dysfonctionnement mitochondriale (Bonnard et al., 2008). Cette altération des fonctions mitochondriales induite par une diète obésogène prolongée résulterait entre autre d'une diminution des gènes codant pour les protéines impliquées dans l'OXPPOS ainsi que de PGC-1 α , activement impliqué dans la biogénèse mitochondriale (Sparks et al., 2005). Cette diminution des capacités oxydatives des muscles squelettiques combinée à l'augmentation de la lipotoxicité, majoritairement causée par l'accumulation croissante de lipides intra-myocytaires et leurs intermédiaires lipidiques tels que les LC-CoA, DAG et céramides, mènerait ultimement vers la résistance à l'insuline (Schrauwen et al., 2010) par l'inhibition de l'activation de la voie PI3K (Yu et al., 2002).

Toutefois, l'organisme possède des mécanismes afin de se protéger et de contrer l'augmentation du stress oxydatif et la production excessive de ROS. L'un de ces mécanismes est la surexpression d'UCP3 lors de situations associées à une accumulation lipidique accrue, comme c'est le cas lors de la consommation d'une diète obésogène (Schrauwen et al., 2010). Effectivement, la présence de cette protéine découplante dans la membrane interne des mitochondries du muscle squelettique permettrait, de par sa fuite de protons, de réduire la production mitochondriale de ROS (Steinbacher and Eckl, 2015, Schrauwen et al., 2010, Nabben et al., 2008).

2.11 Muscle squelettique

Il existe trois types de tissus musculaires, soit le muscle lisse, le muscle cardiaque et le muscle squelettique. Grâce à ses contractions, le muscle lisse permet la circulation des différents milieux à l'intérieur de l'organisme, tels que l'air, le sang ou encore la nourriture. Le muscle cardiaque, quant à lui, sert à propulser le sang dans l'ensemble du corps en contractant vigoureusement le cœur. Alors que ces deux types de muscles sont contrôlés par le système nerveux autonome et donc, de manière involontaire, le muscle squelettique est pour sa part contrôlé volontairement. Ce dernier, qui fera l'objet de la présente étude, sert principalement à la locomotion et à effectuer des mouvements. Chez les hommes, les muscles squelettiques occupent plus de 38% du poids corporel, tandis que cette valeur tourne autour de 30% chez les femmes (Janssen et al., 2000).

2.12 Structure du muscle squelettique

Le muscle squelettique est, en général, fixé aux os par l'intermédiaire de tendons et est composé de plusieurs faisceaux qui sont, à leur tour, composés de fibres musculaires. Les fibres musculaires, également appelées myocytes, contiennent de plus petites structures, nommées myofibrilles. Des microfilaments minces et épais, respectivement composés d'actine et de myosine, se retrouvent dans ces structures et forment des sarcomères (Gautel, 2011), qui sont de petites unités fonctionnelles de l'organisation du muscle (Figure 2.6).

Plusieurs couches de tissu conjonctif sont présentes dans le muscle squelettique. Effectivement, l'ensemble du muscle est recouvert par une première couche nommée l'épimysium. Cette première couche assure le maintien du muscle et de sa forme. Les

faisceaux musculaires sont, pour leurs parts, recouvert d'une autre couche de tissu conjonctif, le périmysium, afin d'être maintenus ensemble. Finalement, l'endomysium, quant à elle, enveloppe les fibres musculaires (Figure 2.6).

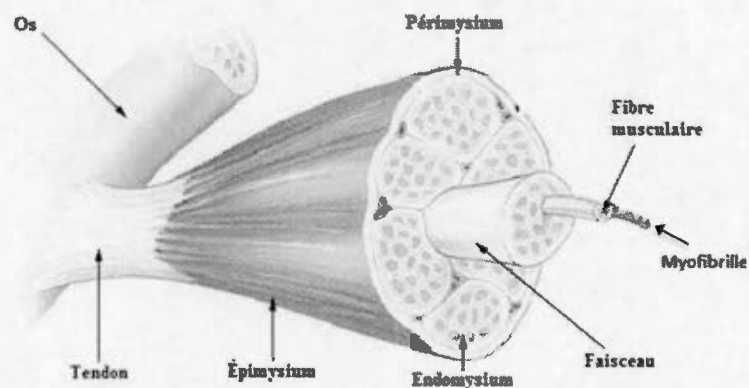


Figure 2.6 : Structure du muscle squelettique

2.13 Contraction musculaire

Le muscle peut se contracter majoritairement grâce à l'interaction des protéines d'actine et de myosine, qui créent ensemble un raccourcissement des sarcomères. Cela se produit par un glissement des filaments minces et épais les uns sur les autres, les filaments d'actine détenant des sites de liaison pour les têtes de myosine. En période d'inactivité, ces sites sont recouverts par la tropomyosine et la troponine, deux protéines particulièrement sensibles au ions calcium (Ca^{2+}) (Scott et al., 2001). La tropomyosine est sous la forme d'un long brin recouvrant les sites actifs de l'actine tandis que la troponine est une protéine de forme globulaire, plus précisément composée de trois sous-unités. L'une de ces sous-unités, la Troponine C, comprend un site de liaison spécifique qui se lie au calcium afin de contrôler l'activation de la contraction musculaire. Quant à elle, la seconde sous-unité, la Troponine L, permet de

se lier à l'actine afin de contrôler les interactions avec les filaments de myosine. La dernière sous-unité, la Troponine T, comporte pour sa part un site de liaison afin de se fixer à la tropomyosine (Baylor and Hollingworth, 2012).

Lors d'une stimulation du muscle, les ions calcium (Ca^{2+}) sont libérés par les citernes terminales du réticulum sarcoplasmique et se propagent à l'intérieur des myofibrilles. C'est cette augmentation de la concentration de calcium qui permet de libérer les sites de liaison des filaments d'actine, permettant à la myosine de se lier à ceux-ci (Gomez et al., 2006). Une fois ancrée, la myosine modifie sa structure afin de créer un mouvement qui permet aux filaments d'actine de glisser vers l'intérieur du sarcomère. La présence d'ATP est essentielle pour procurer de l'énergie à la tête de myosine afin que celle-ci puisse se libérer du site de liaison. Cette énergie produite par l'hydrolyse de l'ATP grâce à l'adénosine triphosphatase (*ATPase*) permet à ce cycle de se reproduire des milliers de fois lors d'une contraction, réduisant considérablement la longueur des sarcomères.

Une fois la contraction terminée, le réticulum sarcoplasmique réabsorbe le calcium et les sites de liaison de la myosine sur l'actine sont à nouveau recouverts grâce à la troponine et la tropomyosine (Baylor and Hollingworth, 2012).

Plusieurs autres protéines sont présentes dans les myofibrilles afin d'offrir, entre autre, un support structural aux sarcomères lors des contractions musculaires. C'est le cas de la nébuline ou encore de la titine, deux protéines qui permettent de fixer respectivement les filaments de myosine et d'actine (Wang and Wright, 1988) sur leurs bandes respectives. Ces protéines sont primordiales afin de permettre une contraction

musculaire efficace puisqu'elles maintiennent les sarcomères dans leur bon alignement et position structurale.

2.14 Protéine *Alpha-Actinine*

Cette famille de protéines se fixant sur les filaments d'actines comporte quatre isoformes dont l'alpha-actinine-3 (ACTN3 α) qui est présent spécifiquement dans les fibres musculaires glycolytiques (Mills et al., 2001). Une déficience de cette protéine réduit significativement l'activité de l'enzyme glycogène phosphorylase (Quinlan et al., 2010), responsable de la dégradation du glycogène en glucose, favorisant ainsi l'utilisation de voie énergétique de la phosphorylation oxydative (Berman and North, 2010). Par ailleurs, l'expression de cette protéine est fortement associée à la performance athlétique en améliorant la force (Clarkson et al., 2005) et la puissance musculaire (Heppner et al., 2013).

2.15 Types de fibres musculaires.

Anciennement, les fibres musculaires étaient classées en fonction de leur vitesse de contraction et de leur couleur. Ainsi, les fibres dites rapides étaient associées à la couleur blanche et les fibres de types lentes à la couleur rouge en raison de leur haute teneur en myoglobine, une protéine du système circulatoire qui transporte l'oxygène dans le muscle. Cependant, cette méthode de classification était peu précise en raison des nombreuses variations de couleurs des fibres. À cause de ces colorations intermédiaires, il était difficile de classer avec certitude les fibres en se basant uniquement sur leur couleur.

La classification des fibres musculaires peut se faire de diverses façons, certaines étant plus communément utilisées que d'autres. Tout d'abord, des techniques histochimiques permettent de classer les fibres en fonction de leur teneur en myosine adénosine triphosphate phosphohydrolase (myosine ATPase), où le niveau d'activité enzymatique est corrélé avec la composition en chaînes lourdes de myosines (Staron and Pette, 1986). Les fibres de type II comportent une activité ATPase de la myosine beaucoup plus élevée que les fibres de type I (Barany, 1967, Scott et al., 2001). Avec cette méthode de classification, les fibres ont pendant longtemps été classées comme étant de type I, IIa ou IIb. Cependant, des études ont démontré que plusieurs niveaux intermédiaires étaient également présents (Scott et al., 2001, Zhang et al., 1998) et qu'il y aurait plutôt 7 types de fibres musculaires. De ce fait, de la vitesse de contraction la plus lente jusqu'à la plus rapide, il y aurait les fibres de type I, IC, IIC, IIAC, IIA, IIAB et IIB. Malgré tout, la plupart des chercheurs actuels classifient encore les fibres musculaires en ne tenant compte que des trois types de fibres originellement établies.

Il est également possible de classer les fibres musculaires à l'aide des isoformes de chaînes lourdes de myosine (MHC) (Canepari et al., 2010, Pette et al., 1999, Pette and Staron, 1997, Scott et al., 2001), identifiant ainsi les fibres, des plus lentes au plus rapides, comme étant de type MHC I, MHC IIa ou MHC IIx/d (MHC IIb chez les animaux) ou simplement I, IIa, IIx/d, et IIb.

Finalement, grâce à des facteurs biochimiques qui reflètent les enzymes responsables du métabolisme énergétique du muscle, les fibres peuvent être classées comme étant à contractions lentes oxydatives, à contractions lentes oxydatives/glycolytiques ou à contractions rapides glycolytiques (Scott et al., 2001).

2.16 Modification du type de fibres musculaires

Les fibres de type I, de par leur contenu élevé en mitochondries, sont spécialisées dans la réalisation d'effort de longue durée, étant très résistantes à la fatigue, et sont donc abondamment présentes chez les athlètes d'endurance (Wilson et al., 2012). Ces fibres oxydatives ont naturellement un contenu en TG plus élevé et une plus faible réserve de glycogène comparativement aux fibres de types glycolytiques. Pour leur part, les fibres de type IIa et IIx permettent la réalisation d'effort en force et en puissance de courte durée grâce à leur capacité de se contracter rapidement mais sont très peu résistantes à la fatigue (Wilson et al., 2012).

Il est reconnu que les fibres de type IIx peuvent se convertir en type IIa, et vice-versa. Cependant, les mécanismes permettant la possibilité de changement des fibres de type II en type I restent encore mal définis. Par contre, certains types d'activités physiques semblent permettre une modification du ratio des fibres, comme c'est le cas lors de l'augmentation de l'entraînement en endurance en même temps qu'une diminution de la charge en puissance. Cette forme d'entraînement induirait une augmentation du type de fibre I et une diminution du nombre de fibre de type IIa chez les humains (Gehlert et al., 2012). Des résultats semblables ont été obtenus en soumettant des souris à un entraînement en résistance. Ces expériences ont diminué le ratio de fibres de type II / type I en élevant principalement le nombre de fibres de type I (Kruger et al., 2013). Ainsi, l'augmentation du nombre de fibres musculaires de type oxydative serait une forme d'adaptation de l'organisme face à un entraînement en endurance.

D'un point de vue plus mécanistique, une surexpression de PGC-1 α semblerait induire une modification des fibres IIb pour des fibres de type IIa ainsi que des fibres oxydatives de type I (Lin et al., 2002). Ainsi, cette surexpression du co-activateur PGC-

Il α améliorerait le contenu mitochondrial dans le but d'augmenter les capacités d'oxydation des AGLs, tel que retrouvé chez les athlètes d'endurance (Russell et al., 2003).

De plus, tout comme lors de la pratique d'une activité physique spécifique, la consommation de certains substrats énergétiques menant vers le développement de l'obésité induirait également une modification de la typologie des fibres musculaires (Wilson et al., 2012). Ultimement, autant chez les humains que les rats, l'obésité chronique est associée à une augmentation des fibres de type IIx ainsi qu'à une réduction des fibres de type I (Tanner et al., 2002, Hickey et al., 1995).

2.17 Importance clinique des propriétés musculaires

La condition physique et les propriétés musculaires ont non seulement une influence incontestable sur la capacité d'un individu à produire une action physique mais sont aussi parmi les plus importants facteurs de risque associés aux maladies métaboliques et cardiovasculaires (Ortega et al., 2007). Parmi les déterminants de la condition physique, nous retrouvons la force musculaire qui consiste en la capacité à générer une force contre une résistance et qui se compose entre autre de la force maximale et de l'endurance musculaire (Ortega et al., 2007).

L'enfance et l'adolescence sont des périodes cruciales de la vie où de nombreuses modifications physiologiques et psychologiques occurrent et peuvent avoir une influence importante sur l'adoption ou non d'un mode de vie sain et actif permettant le développement des déterminants de la condition physique. Or, le développement d'une force musculaire adéquate aura des effets bénéfiques contre le développement de

l'obésité, de l'hypertension et du diabète tout en diminuant l'incidence du syndrome métabolique chez les hommes de tout âge (Jurca et al., 2005). À court terme, il est possible d'observer une altération de la sensibilité à l'insuline par le muscle squelettique suivant une perte de force musculaire suite à l'arrêt d'un entraînement en résistance chez de jeunes patients sains (Andersen et al., 2003). Inversement, chez des patients diabétiques de type II, une augmentation de la force musculaire se traduit également par une amélioration globale du profil métabolique et d'une réduction des risques de complications associés au diabète (Honkola et al., 1997).

Outre ces effets bénéfiques face aux maladies métaboliques, le développement de la force musculaire au cours de l'adolescence permet également la diminution de l'incidence à long terme de l'ostéoporose en affectant positivement la densité osseuse, tel que démontré par une étude longitudinale effectuée chez de jeunes adolescentes sur une période de 20 ans (Barnekow-Bergkvist et al., 2006). Cette augmentation de la masse osseuse à l'âge adulte permet entre autre de prévenir les risques de fractures associés à l'ostéoporose.

Une diminution de la force musculaire aurait ainsi un effet néfaste à court et long terme sur la prévalence du syndrome métabolique et le développement de maladies métaboliques en plus d'affecter la densité osseuse.

CHAPITRE III

MÉTHODOLOGIE

La méthodologie proposée ci-dessous a l'intention de répondre à la question de recherche visant à déterminer si une infiltration et accumulation excessive de lipides dans le muscle squelettique a une influence sur les fonctions musculaires. De plus, elle nous permettra de mieux définir certains mécanismes pouvant être impliqués dans l'accumulation lipidique du tissu musculaire.

3.1 Conditions (variables indépendantes)

Au cours de ce présent projet de recherche, plusieurs conditions de mesures auront été établies et représenteront les variables indépendantes. En premier lieu, il y a la durée totale de l'expérimentation, qui sera fixée à 14 jours. Lors de la mise en cage, les rats seront en période de puberté, étant âgés entre 37 et 40 jours. Durant cette période spécifique, il a été démontré que 10,5 jours chez les rats équivalaient environ à 1 an chez les humains (Sengupta, 2013). Par la suite, tous les rats seront soumis aux mêmes conditions d'hébergement durant l'expérimentation. Le protocole de contractilité musculaire utilisé sera également le même pour tous les rats et il se déroulera à une température contrôlée à 30°C +/- 0,5°C. Préalablement aux extractions musculaires et aux tests de contractilité, les rats seront transportés de l'animalerie jusqu'à notre laboratoire dans une boîte de transport spécifiquement conçue pour cet usage.

En ce qui concerne les analyses d'expression génique, l'extraction d'acides ribonucléiques messager (ARN) sera réalisée en utilisant la même méthode

d'extraction et ce, peu importe le muscle analysé. La qualité et l'abondance de l'extraction (ratio 260nm/280nm), vérifiée par spectrophotométrie, devra se situer entre 1,7 et 2. Par la suite, la quantité d'acide désoxyribonucléique complémentaire (cDNA) utilisée sera de 2µL et les amorces utilisées pour identifier les différents gènes d'intérêts ainsi que les gènes de référence seront les mêmes pour chaque analyse sur les tissus musculaires.

3.1.1 Le schéma expérimental

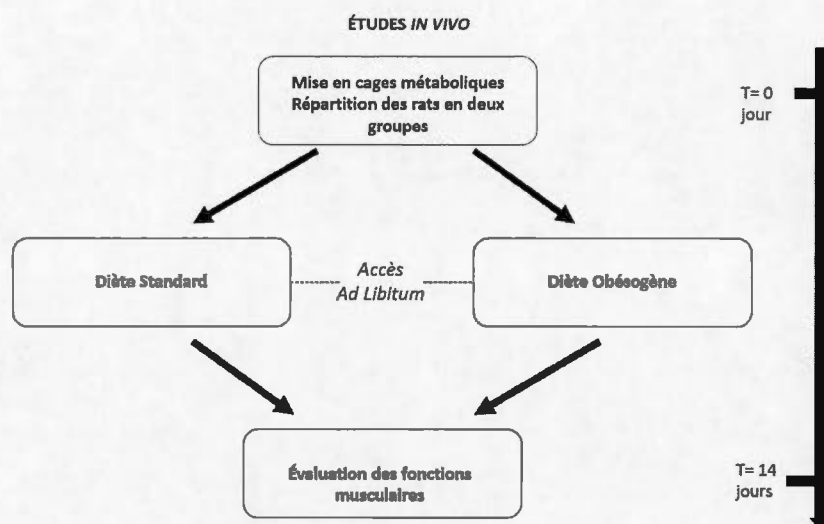


Figure 3.1: Devis expérimental : Évaluation des fonctions musculaires et autres analyses.

Au jour 0, les rats seront placés en cage métabolique avec une diète conventionnelle ou obésogène. À chaque jour les cages seront nettoyées, les rats seront pesés et de la nourriture sera ajoutée dans les mangeoires.

Au jour 14, nous procéderons à l'extraction de l'*extensor digitorum longus* (EDL), principalement de type glycolytique, et du *soleus* (SOL), principalement oxydatif (Masgrau et al., 2012), de la patte droite afin d'évaluer les fonctions musculaires. Nous récolterons également ces deux muscles sur la patte gauche pour des analyses d'expression génique en plus d'extraire le tissu adipeux inguinal, épидидymaire et péri-rénal, le tissu adipeux brun ainsi que le foie pour de prochaines analyses. Cette manipulation sera effectuée sous anesthésie à l'isoflurane et sera terminale puisque les rats seront sacrifiés immédiatement après l'extraction des différents tissus. Ces derniers seront conservés à -80°C.

3.2 Mesures (variables dépendantes)

Au cours de ce projet, plusieurs variables seront mesurées et dépendront des différentes conditions imposées. C'est entre autre le cas du poids de l'animal, qui variera selon les conditions auxquelles ce dernier est soumis. Cette variation de poids aura un effet sur la force spécifique générée par un muscle, puisque celle-ci dépendra non seulement de la longueur du muscle, mais également de sa masse.

De plus, puisque les conditions d'extraction et d'analyse d'expression génique sont les mêmes pour chaque tissu analysé, le niveau d'expression des différents gènes mesurés dans les tissus dépendra des traitements auxquels l'animal aura été soumis durant l'expérimentation.

Le nombre de sujets ($n=8$) fut déterminé au moyen d'un calcul de puissance d'effet avec un bêta de 0.8 (logiciel Statistical Analysis Software) et réalisé avec un écart-type de 4 provenant de résultats préliminaires de force-fréquence spécifique maximale.

3.3 Procédures

3.3.1 Diètes

Les animaux seront nourris à partir d'une diète conventionnelle contenant 3,1 kcal/g (Rodent Chow 5075 : 4,5% de lipides, 62,5% de glucides et 18% de protéines) (ANNEXE A) et provenant des Laboratoire Charles River (St-Constant, Canada) ou d'une diète obésogène contenant 5,24 kcal/g (Diet Induced Obesity #D12492), tel qu'élaborée par Research Diets, Inc., (NJ, États-Unis) dont 60% des calories sont dérivées des lipides, 20% des glucides et 20% de protéines (ANNEXE B).

Les animaux auront accès *ad libitum* à la nourriture et à l'eau durant toute la durée de l'expérience. La nourriture sera préparée en grande quantité (+/- 4.5 kg) et sera conservée sous vide en petits paquets (+/- 1 kg) à -20 °C jusqu'à ce qu'elle soit utilisée. Une fois décongelés, les paquets de nourriture seront conservés à une température de 4 °C.

3.3.2 Animaux et cages métaboliques

Le présent projet de recherche sera effectué sur des rats Wistar mâles, pesant $153,6 \pm 4,6$ g lors de leur mise en cage (Laboratoires Charles River, Saint-Constant, Canada). Cette lignée de rats créée par croisements consanguins est très utilisée pour étudier les effets de l'obésité induite par une diète en raison de sa faible tendance à développer une résistance à l'obésité, comparativement à d'autres lignées telles Sprague-Dawley (Reuter, 2007).

Le protocole de recherche utilisé fut approuvé par le Comité Institutionnel de Protection des Animaux (CIPA) (numéro d'acceptation : 0515-R3-759-0516) et est conforme aux règles déontologiques et normes définies par le Conseil Canadien de Protection des Animaux (CCPA). Les rats seront commandés en accord avec les règlements du CIPA et seront logés dans les animaleries de l'UQAM. Une acclimatation de trois jours sera respectée dès leur arrivée avant de débiter les expérimentations.

Les rats (n=16) ont été aléatoirement répartis en deux groupes (n=8/groupe), l'un soumis à une diète obésogène (groupe traitement – RDO) et l'autre à une diète de type conventionnel (groupe témoin - RDC). À leur arrivé à l'UQAM, une période de trois jours d'acclimatation à leur nouvel environnement a précédé le début de l'expérimentation. Les rats ont été par la suite logés individuellement dans des cages métaboliques (CLAMS, Columbus Instruments, OH, USA) pendant 14 jours, suivant un cycle de luminosité de 12h/12h avec ouverture des lumières à 6h00. Les cages ont été calibrées avant chaque mise en cage tel que recommandé par le fabricant. L'apport alimentaire, le quotient respiratoire, le déplacement volontaire ainsi que la prise de poids des animaux ont été mesurés quotidiennement.

3.3.3 Extractions musculaires et tests de contractilité

Au 14^e jour, les rats ont été anesthésiés avec de l'isoflurane 5% afin de procéder à l'extraction des muscles EDL (Hakim et al., 2013) et SOL (Segal and Faulkner, 1985). Les muscles étaient par la suite plongés dans une solution de Krebs physiologique [en mmol/L : 118 NaCl, 4,694 KCl, 1,196 MgSO₄, 0.999 KH₂PO₄, 2,503 CaCl₂ □ 2H₂O, 24,997 NaHCO₃, 1,100 C₆H₁₂O₆] continuellement oxygénée [95% O₂ et 5% CO₂] (Zuo et al., 2011).

Les muscles extraits ont été installés sur un système de contraction musculaire (Aurora Scientific Inc, On. Canada) afin de mesurer leur force de contraction. Tout au long du protocole de contraction, le muscle était submergé dans une solution de Krebs oxygénée à une température de 30 °C (Hakim et al., 2013).

La longueur optimale du muscle (L_0), permettant le développement maximal de force suite à une contraction instantanée (*twitch*), a été déterminée et mesurée avant le début des contractions. Le ratio L_0 sur le poids du muscle sec, mesurée une fois l'expérimentation terminée, multiplié par la densité musculaire (1.06 g/cm^3) (Brooks and Faulkner, 1988, Mendez and Keys, 1960) a permis de déterminer l'aire transversale du muscle et de calculer la force spécifique (en N/cm^2) générée par ce dernier.

Une fois le muscle ajusté à sa longueur optimale, nous avons mesuré la force tétanique générée par le muscle lors de diverses fréquences de stimulation, allant de 150 Hz à 5 Hz durant 600 ms chacune. Une période de deux minutes de récupération entre chaque contraction était respectée. Par la suite, le muscle était soumis à un protocole de fatigue musculaire consistant à une stimulation de 150 Hz à chaque 2 secondes pendant une période de 3 minutes. Pour finir, un protocole de récupération consistant à une stimulation de 150 HZ aux 90 secondes pendant une période 30 minutes a été effectué.

Les données ont été analysées grâce au logiciel Dynamic Muscle Analysis (DMA) software (Aurora Scientific Inc, On. Canada) afin de déterminer la force absolue et spécifique maximale générée à chaque fréquence de contraction (Close and Hoh, 1968). Au niveau de la résistance à la fatigue et de la capacité d'endurance, la variation de force entre la première et la dernière contraction lors du protocole de fatigue a été analysée ainsi que le pourcentage de la force initiale récupérée.

Les muscles de la patte droite ont servi à mesurer la force de contraction tandis que ceux de la patte gauche ont été conservés à -80°C pour les analyses d'expression génique.

3.3.4 Analyse quantitative de l'expression génique (RT-qPCR)

Des sections de tissus musculaires de l'EDL et du SOL extraient ont été conservées dans une solution de *RNAlater* (Life Technologies Inc., Burlington, ON) puis l'ARNmessenger (ARNm) sera recueilli à l'aide de trousse d'extraction (Qiagen Inc., Toronto, ON) selon les procédures du manufacturier. Il est important de noter que ces analyses ont majoritairement servi de données exploratoires en raison de la faible quantité de tissus disponibles (RDC : n=4 et RDO : n=3); l'objectif principal de ce mémoire étant principalement l'observation des effets au niveau de la contractilité musculaire. L'extraction d'ARNm et la quantification par RT-qPCR ont été effectués par madame Jocelyne Mercier au Centre de Recherche du CHU Ste-Justine.

La qualité de l'ARNm a été déterminée par spectrophotométrie (NanoDrop 2000, ThermoScientific, Del., USA) avec un ratio 260 nm/280 nm se situant entre 1,7 et 2,0. La dégradation de l'ARNm a ensuite été vérifiée sur gel d'agarose. L'ADNc a été obtenue par transcriptase inverse (*RT*) en utilisant 1 µg d'ARNm (Miegeue et al., 2011). La réaction en chaîne par polymérase (qPCR) a été réalisée à partir de 2 µL d'ADNc et de 8 µL de solution d'un mélange (*MasterMix*) à base de SYBR Green et d'eau sans ARNase, selon les directives du fabricant (Quantitec SYBr green PCR kit, QIAGEN inc., Toronto, Canada).

Les expériences ont été réalisées en triplicata dans des plaques de 384 puits et les analyses ont été effectuées par un lecteur de plaques de PCR en temps réel (QuantStudio 6 Flex System, Life Technologies Inc., ON, Canada). L'amplification s'est déroulée durant une période de 40 cycles. Les produits de l'amplification ont été analysés avec le logiciel Viia7 et les niveaux d'expression d'ARNm seront par la suite normalisés par rapport aux valeurs obtenues avec les gènes de référence (Tableau 3.1) hydroxymethylbilane synthase (Hmbs) et phosphoglycerate kinase 1 (Pgk1), selon les recommandations du fabricant.

Les principaux gènes impliqués dans la différenciation des adipocytes et des myocytes, dans la biogénèse mitochondriale et dans le transport et l'oxydation des acides gras ont été analysés (Tableau 3.2). Les amorces spécifiques à chacun de ces gènes ont été générées en utilisant la base de données NCBI GENE, disponible sur internet (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>). Ces amorces seront ensuite préparées par Integrated DNA Technologies (IDT INC., IA, USA).

Tableau 3.1: Contrôles endogènes

GÈNE/RAT	SÉQUENCE DE L'AMORCE
Hmbs	F: TGCATGATCCTGAAACTCTGCT R: GGTACAGTTGCCCATCCTTCAT
Pgk1	F: AACAAAGCTGACTTTGGACAAGC R: AGCAGCCTTGATCCTTTGGTTA

Tableau 3.2: Liste des gènes analysés

GÈNE/RAT	ALIAS/ ORTHOLOGUE	SÉQUENCE DE L'AMORCE
Acaca	ACC1	F: GAAGTGACTGACTCCAGGACAG R: GGTCTTTGGTCACATACGGAGT
Acss2	ACS	F: ACTTGGCGACAAAGTTGCTTTT R: TCTGAACACCCTGTTTACGGAG
Actn3 α		F: TTCAACCACTTTGACCGGAAGC R: TGGTCATGATCCGAGCAAATC
Cd36		F: GCCAGCTAGAAAAATAGAAGCACT R: CATTTCTGCTTTCTCATCGCCG
Cpt1b		F: TGGGCAACCAACTATGTAAGTGA R: TGCTTGTGGCTCGTGTCTTA
Cpt2		F: GATTATCTGCAGCACAGCATCG R: CTTCTGTTCTCCTGAACTGGCT
Dgat 1		F: ACATTTCAAGTTGAGAAGCGCC R: GGAACCCACTGGAGTGATAGAC
Fabp4		F: CCCAGATGACAGGAAAGTGAA R: GCCTTTCATGACACATTCCACC
Fasn	FAS	F: CTGGCCATGGTTTTAAGGGATG R: GAGAAGGCCACAAAGTAGTCCA
Lpl		F: GAAAGCCGGAGAGACTCAGAAA R: TGTTGGTTTGTCCAGTGTGAGC
Pparg		F: GAAGAGCCTTCAAACCTCCCTCA R: GCTTCAATCGGATGGTTCTTCG
Ppargc1 α	PGC-1 α	F: AGAGTCACCAAATGACCCCAAG R: TTGGCTTTATGAGGAGGAGTCG
Slc27a4	FATP4	F: CACTCAGCAGGAAACATTGTGG R: GGCAAAGCTACCAATGTACTG
Ucp3		F: AAAGACCCGATACATGAACGCT R: AAGGAGGGCATGAATCCTTTGT

3.3.5 Imagerie par spectrométrie de masse

L'imagerie par spectrométrie de masse MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization) a permis de détecter, d'identifier et de localiser les lipides suite à des coupes histologiques sur les tissus du muscle Sol. À noter que ces analyses ont uniquement été effectuées sur le SOL, choisi en raison de la grande capacité d'oxydation des lipides de ce type de muscle. Des coupes de 14 microns ont été placées sur des lames conductrices, grâce à un recouvrement d'oxyde d'indium-étain, afin d'y déposer la matrice. Cette dernière permet une cristallisation homogène sur les tissus afin d'éviter une délocalisation des molécules. Un logiciel d'analyse a ensuite permis de recréer la distribution des molécules détectées selon la localisation des spectres captés. Les expériences d'imagerie MALDI ont été effectuées en collaboration avec le Dr. Pierre Chaurand, professeur au département de chimie à l'Université de Montréal.

3.3.6 Analyses statistiques

Les données sont présentées par moyennes plus ou moins les erreur-types. Les comparaisons ont été faites entre le groupe avec traitement de diète riche en gras et le groupe contrôle avec une diète conventionnelle. La normalité de la distribution a été évaluée par un test de Shapiro-Wilk et un test-t indépendant de Student a permis d'analyser l'effet du traitement. Une analyse à mesures répétées avec une correction de Bonferroni a également permis de déterminer les effets de groupes et de temps pour certaines mesures. La significativité statistique est établie à $p < 0,05$. Toutes les analyses ont été effectuées sur le logiciel SPSS (version 21, IBM Corporation, NY., USA).

CHAPITRE IV

RÉSULTATS

4.1 Mesures anthropométriques des animaux et données métaboliques

4.1.1 Poids des animaux et aires transversales des muscles

Le Tableau 4.1 met en évidence la variation du poids des animaux entre le moment de l'extraction des muscles (jour 14) et la mise en cage (jour 0) n'est pas significative entre les deux groupes. De plus, l'évolution du poids des animaux au fil des jours est constante (Figure 4.1), sans aucune différence notable d'un groupe à l'autre.

Tableau 4.1: Mesures anthropométriques

		Variation poids (g)
conditions	RDC	142.34 \pm 5.20
	RDO	135.40 \pm 4.01
a. Les données sont présentées en moyennes \pm erreur-type pour (RDC : n=8 ; RDO: n=7)		
b. Aucune différence significative ($p > 0,05$) entre les groupes au niveau de la variation du poids.		

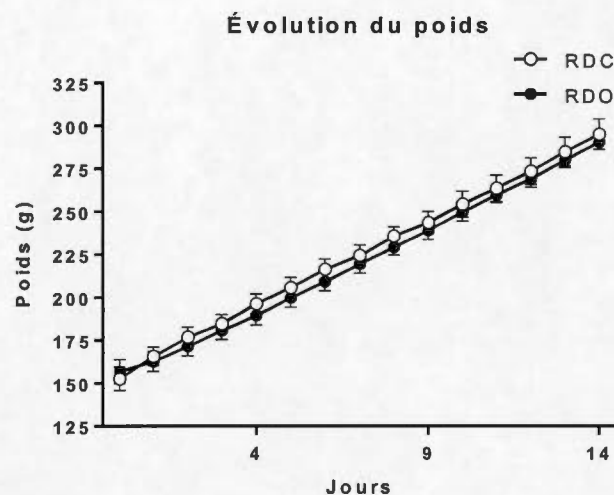


Figure 4.1: Évolution du poids

Données présentées en moyennes \pm erreur-type; (RC: $n=8$; RDO: $n=7$).
 (A) L'évolution du poids des animaux sur 14 jours ne démontre aucune différence significative entre les groupes.

4.1.2 Prise alimentaire et apports caloriques

La Figure 4.2 illustre l'apport calorique (en kcal/jour) ainsi que la prise alimentaire (en g/jour) quotidienne moyenne durant les 14 jours de traitement. Les animaux consommant une diète riche en matière grasse ont un surplus calorique de 16,6% (RDC : $85.19 \pm 2,71$ cal vs RDO : $103,8 \pm 3,00$ Kcal; $p < 0,01$) tandis qu'ils consomment en moyenne 27,5% moins de grammes de nourriture (RDC : $27,70 \pm 0,88$ g vs RDO : $19,85 \pm 0,63$ g, $p < 0,01$).

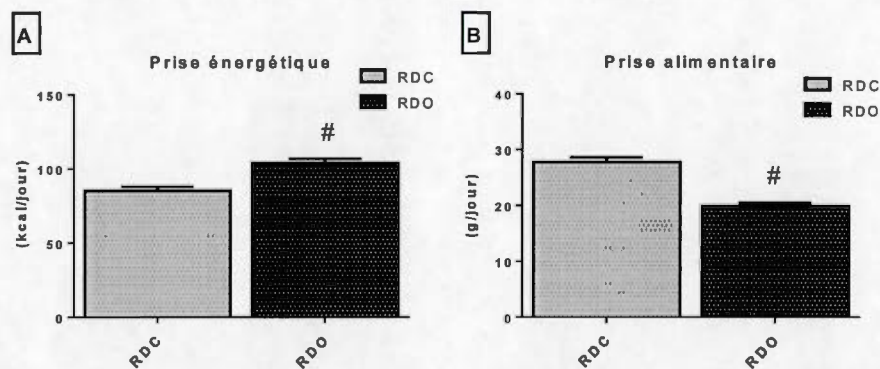


Figure 4.2 : Prise alimentaire

Données présentées en moyennes \pm erreur-type; (RDC : $n=8$; RDO: $n=7$); # = $p<0,01$. La prise énergétique moyenne par jour (A), en termes de calories ingérées, est significativement plus élevée pour les animaux du groupe RDO tandis que la prise alimentaire (B) est significativement plus élevée pour les RDC.

4.1.3 Ratio d'échange respiratoire

La Figure 4.3 présente le ratio d'échange respiratoire (RER) moyen sur les 14 jours en cages métaboliques, exprimé en VCO_2/VO_2 . Les rats du groupe RDO ont un ratio significativement inférieur par rapport à ceux du groupe RDC (RDC : $0,975 \pm 0,004$ vs RDO : $0,826 \pm 0,002$; $p<0,01$).

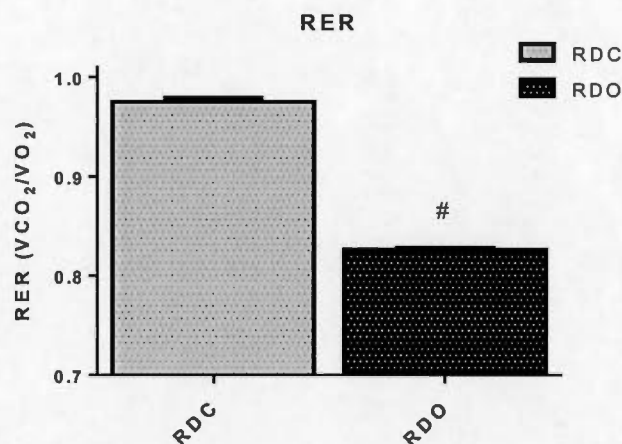


Figure 4.3: Ratio d'échange respiratoire
Données présentées en moyennes \pm erreur-type; (RDC : n=8 ; RDO: n=8); # = $p < 0,01$

4.1.4 Activité physique volontaire

Le déplacement des rats, enregistré par capteur infrarouge durant la phase active (*beam breaks*), permet de voir l'activité locomotrice volontaire des sujets au cours du temps (Figure 4.4). Les données ont été séparées par semaine (0 à 7 jours et 8 à 14 jours) ainsi que par groupe. La valeur « totale » équivaut au nombre de fois que l'un des capteurs est franchi tandis qu'au niveau de la valeur « ambulatoire », il faut que deux capteurs consécutifs soient franchis. Par exemple, si l'animal se gratte sur place, le même capteur sera « franchi », augmentant de cette façon le déplacement total tandis que s'il se déplace dans sa cage, des capteurs consécutifs seront franchis, augmentant alors le déplacement ambulatoire. Cette dernière devrait alors être plus particulièrement prise en compte dans l'évaluation de l'activité physique volontaire puisqu'elle correspond uniquement au déplacement de l'animal tandis que la valeur totale prend également en compte les mouvements effectués lorsque l'animal n'est pas en déplacement.

Au cours de la première semaine, les animaux du groupe RDO ont effectués davantage de mouvements au niveau de l'axe des x total (RDC : $431,117 \pm 3,95$ vs RDO : $471,71 \pm 5,55$; $p < 0,01$) ainsi que sur l'axe des z (RDC : $57,35 \pm 1,53$ vs RDO : $67,85 \pm 1,71$; $p < 0,01$). De plus, les rats RDO se sont également moins déplacés dans leur cage que les RDC au cours de la deuxième semaine (x ambulaire RDC : $170,09 \pm 2,41$ vs RDO : $158,947 \pm 1,34$; $p < 0,01$) alors que les valeurs de l'axe des z sont demeurées supérieures pour les RDO (RDC : $55,03 \pm 0,88$ vs RDO : $65,22 \pm 1,68$; $p < 0,01$).

Concernant uniquement les rats RDO, il est important de noter qu'entre la première et la seconde semaine, leur niveau de sédentarité semble avoir augmenté par la réduction de leurs mouvements (x total Jour 0 à 7 : $471,71 \pm 5,55$ vs Jour 8 à 14 : $449,36 \pm 3,82$; $p < 0,01$) et leur déplacement (x ambulaire Jour 0 à 7 : $173,97 \pm 2,37$ vs Jour 8 à 14 : $158,95 \pm 1,34$; $p < 0,01$).

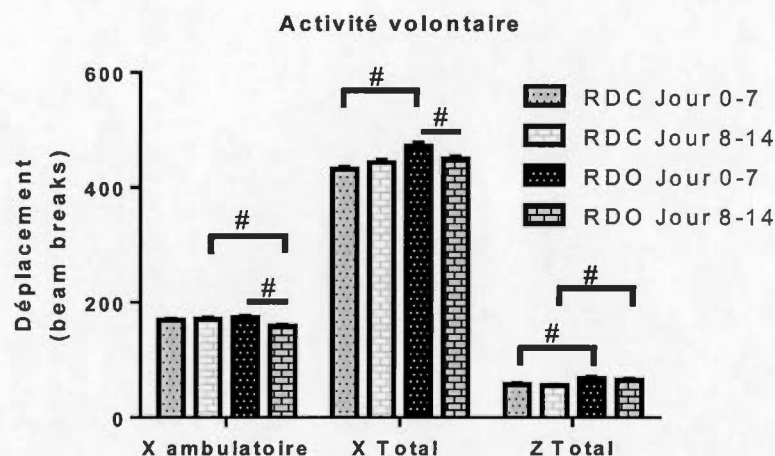


Figure 4.4: Activité physique volontaire

Données présentées en moyennes \pm erreur-type; (RDC : $n=8$; RDO: $n=8$); # = $p < 0,01$. Les animaux sur une diète obésogène se sont significativement moins déplacés au courant de la deuxième semaine que les animaux sur diète conventionnelle. Les animaux du groupe RDO ont également significativement réduit leurs déplacements ambulateurs durant la deuxième semaine comparativement à la première semaine de diète.

4.1.5 Aires transversales des muscles

La Figure 4.5 démontre qu'aucune différence n'est observée ($p > 0,05$) en ce qui concerne l'aire transversale du muscle EDL (RDC : $0,416 \pm 0,016 \text{ mm}^2$ vs RDO : $0,446 \pm 0,012 \text{ mm}^2$) ainsi que du SOL (RDC : $0,524 \pm 0,016 \text{ mm}^2$ vs RDO : $0,573 \pm 0,025 \text{ mm}^2$), mesurée en fonction de la longueur optimale (L0) du muscle, de son poids une fois asséché suite au protocole de contractilité musculaire et de l'indice de densité du muscle de $1,06 \text{ g/cm}^3$.

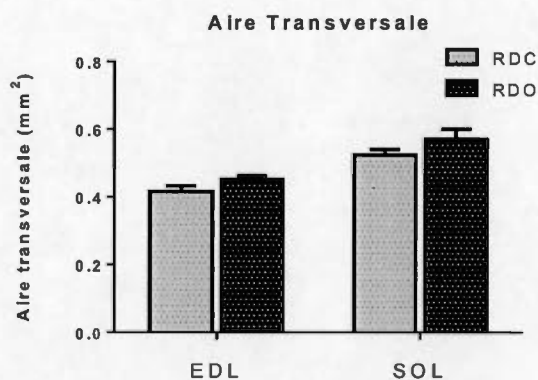


Figure 4.5: Aire transversale :

Autant pour le muscle EDL que SOL, aucune différence n'est observée entre les moyennes des aires transversales.

4.2 Propriétés contractiles des muscles EDL et SOL

4.2.1 Force-fréquence absolue

La Figure 4.6 démontre la force absolue, exprimée en gramme de force, obtenue lors des tests de contractilité musculaire. Au niveau du muscle EDL (majoritairement glycolytique), les rats du groupe RDO ont une diminution de force pour des fréquences de contractions inférieures à 50 Hz ($p < 0,05$) et la force maximale absolue fut atteinte lors de la contraction de 150 Hz (RDC : $213,39 \pm 5,33$ g vs RDO : $211,44 \pm 3,49$ g). Pour le muscle principalement oxydatif SOL, la force maximale absolue fut atteinte lors de la contraction de 120 Hz (RDC : $98,35 \pm 4,44$ g vs RDO : $91,32 \pm 4,36$ g). Bien que non significatif ($p > 0,05$), il semble cependant y avoir une tendance suggérant que les animaux du groupe RDO pourraient générer sensiblement moins de force au niveau de muscle SOL.

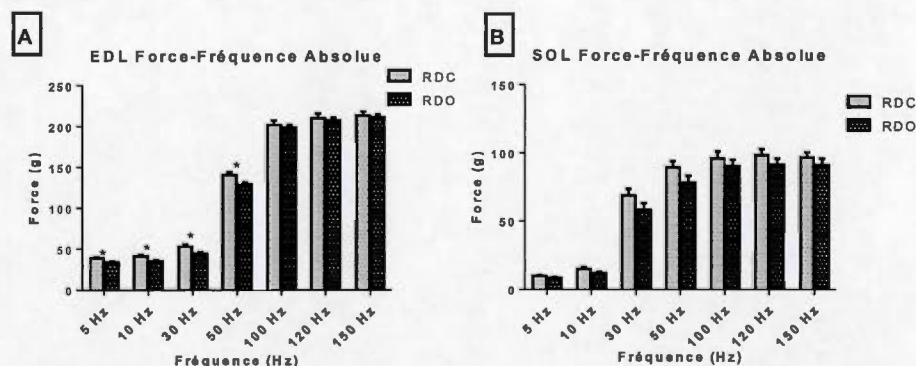


Figure 4.6 : Force absolue générée

Données présentées en moyennes \pm erreur-type; (RDC : n=8 ; RDO: n=7) : * = $p < 0,05$.

(A) Force absolue du muscle EDL, les rats du groupe RDO ont une diminution de force pour des fréquences de contractions inférieures à 50 Hz. (B) Aucune différence significative n'est observée au niveau de la force absolue pour le muscle SOL.

4.2.2 Force-fréquence spécifique

La Figure 4.7 et la Figure 4.8 mettent respectivement en relation la force spécifique, en N/cm^2 , générée par les muscles EDL et SOL pour les fréquences de contractions allant de 5 Hz à 150 Hz. Cette force spécifique est normalisée pour chaque animal en fonction de la longueur optimale et du poids de leurs muscles. Les courbes de force-fréquence permettent de comparer les valeurs de force atteintes en fonction du pourcentage de la valeur maximale.

4.2.2.1 Force-fréquence spécifique du muscle *Extensor Digitorum Longus*

Dans le muscle EDL (Figure 4.7), la force maximale générée à 150 Hz est réduite de 9,45% pour le groupe RDO (RDC : $56,69 \pm 0,83 N/cm^2$ vs RDO : $51,34 \pm 1,09 N/cm^2$;

$p < 0,01$). Aux basses fréquences de 50 Hz et moins, les animaux du groupe RDO génèrent un plus faible pourcentage de leur force maximale ($p < 0,05$) comparativement à ceux du groupe RDC.

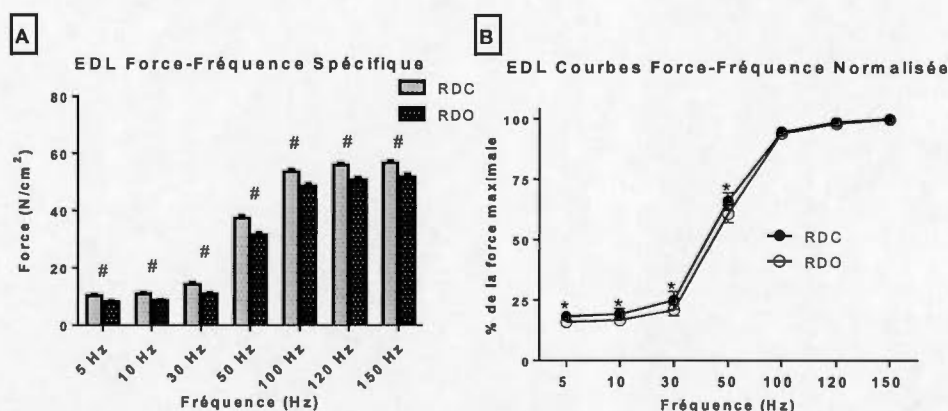


Figure 4.7 : Force-fréquence spécifique du muscle EDL
Données présentées en moyennes \pm erreur-type; (RDC : $n=8$; RDO : $n=7$) ; # = $p < 0,01$; * = $p < 0,05$. (A) La force spécifique générée par les animaux du groupe RDO est significativement inférieure à celle des animaux du groupe RDC. (B) De 5 Hz à 50 Hz, les animaux du groupe RDO génèrent un plus faible pourcentage de leur force maximale.

4.2.2.2 Force-fréquence spécifique du muscle *Soleus*

Au niveau du muscle SOL (Figure 4.8), la force spécifique maximale générée lors d'une contraction de 120 Hz est réduite de 10,98% pour le groupe RDO (RDC : $20,70 \pm 0,85$ N/cm² vs RDO : $18,43 \pm 1,12$ N/cm²). Bien que généralement non significative, sauf lors d'une fréquence de 50 Hz, la force spécifique générée par les muscles SOL du groupe RDO tend à être légèrement inférieure à celle du groupe RDC. Autant pour les animaux du groupe RDC que RDO, aucune différence n'est observée au niveau du pourcentage de force maximale entre les deux groupes. Pour chaque groupe, le

pourcentage maximal de force dans le muscle SOL semble être atteint à une fréquence de 120 Hz.

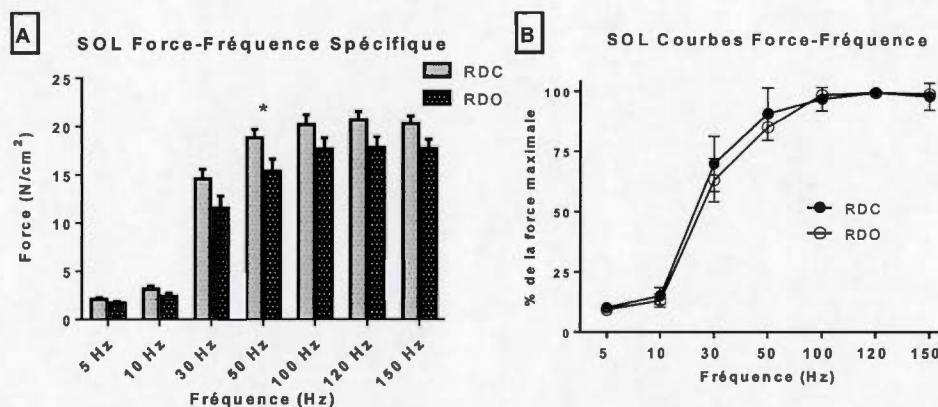


Figure 4.8 : Force-fréquence spécifique du muscle SOL
Données présentées en moyennes \pm erreur-type; (RDC : n=8 ; RDO: n=7); * = $p < 0,05$.
(A) Force spécifique générée par les muscles SOL. (B) Pourcentage de force maximale entre les deux groupes.

4.2.3 Fatigue musculaire

4.2.3.1 Pourcentage de diminution de la force initiale lors du protocole de fatigue

La Figure 4.9 démontre le pourcentage de diminution de force entre la première et la dernière contraction du protocole de fatigue. Les animaux du groupe RDC semblent résister davantage à la fatigue pour le muscle EDL que ceux du groupe RDO (RDC : $89,97 \pm 0,4 \%$ vs RDO : $91,16 \pm 0,24 \%$; $p < 0,05$). Au niveau du muscle SOL, aucune

différence entre les deux groupes au niveau de la diminution de force n'a été observée (RDC : $63,62 \pm 3,70$ % vs RDO : $68,07 \pm 3,97$ %).

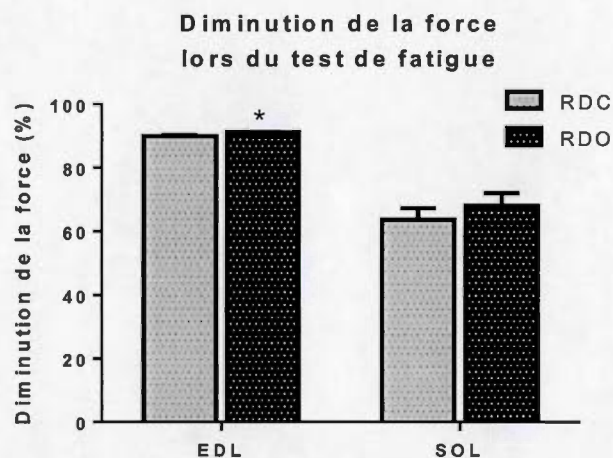


Figure 4.9: Diminution de force

Données présentées en moyennes \pm erreur-type; EDL (RDC: n=8 ; RDO: n=7), SOL (RDC: n=7 ; RDO: n=7); * = $p < 0,05$.

4.2.3.2 Courbes de fatigue des muscles *Extensor Digitorum Longus* et *Soleus*

L'effet du temps durant le protocole de fatigue illustré à la Figure 4.10 indique que pour le muscle EDL, les animaux du groupe RDO se fatiguent plus rapidement à partir de la 45^e secondes du protocole de fatigue, générant à ce moment un pourcentage significativement plus faible de leur force pré-fatigue comparativement à ceux du groupe RDC.

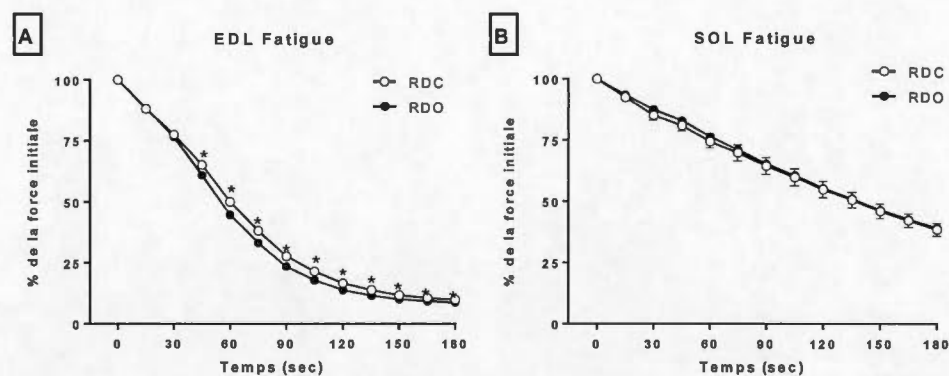


Figure 4.10: Courbes de fatigue du muscle EDL et SOL

Données présentées en moyennes \pm erreur-type; EDL (RDC: $n=8$; RDO: $n=7$), SOL (RDC: $n=7$; RDO: $n=7$); * = $p < 0,05$.

4.2.4 Récupération musculaire

4.2.4.1 Pourcentage de récupération de la force maximale initiale

La Figure 4.11 présente le pourcentage de récupération de la force initiale maximale, déterminé par le ratio entre la force maximale récupérée et celle obtenue lors de la première contraction du protocole de fatigue. Aucune différence en terme de pourcentage de récupération n'a été détectée entre les deux groupes pour le muscle EDL (RDC : $48,96 \pm 1,13$ % vs RDO : $47,39 \pm 1,08$ %) ni pour le SOL (RDC : $77,94 \pm 4,38$ % vs RDO : $75,25 \pm 1,92$ %).

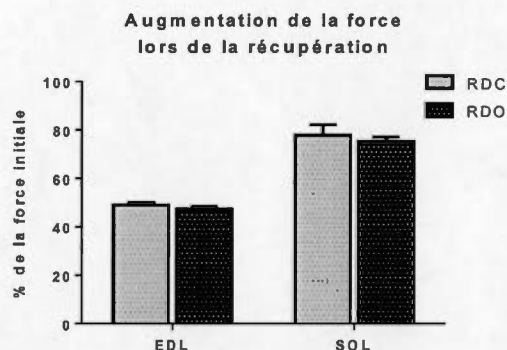


Figure 4.11: Pourcentage de récupération de la force initiale
Données présentées en moyennes \pm erreur-type; EDL (RDC: n=8 ; RDO: n=7), SOL (RDC: n=7 ; RDO: n=7).

4.2.4.2 Courbes de récupération du muscle *Extensor Digitorum Longus* et *Soleus*

Les courbes de récupération (Figure 4.12) présentent l'évolution au cours du temps du pourcentage de récupération, en fonction de la force maximale initiale. Pour le muscle EDL, les animaux du groupe RDO ont récupéré au même rythme, en termes de % de force initiale, que les animaux du groupe témoin. Pour ce qui est du muscle SOL, les muscles du groupe RDO se sont dégénérés à partir de la douzième minute, créant ainsi une diminution de la force, tandis que la force générée par les muscles du groupe RDC reste constante.

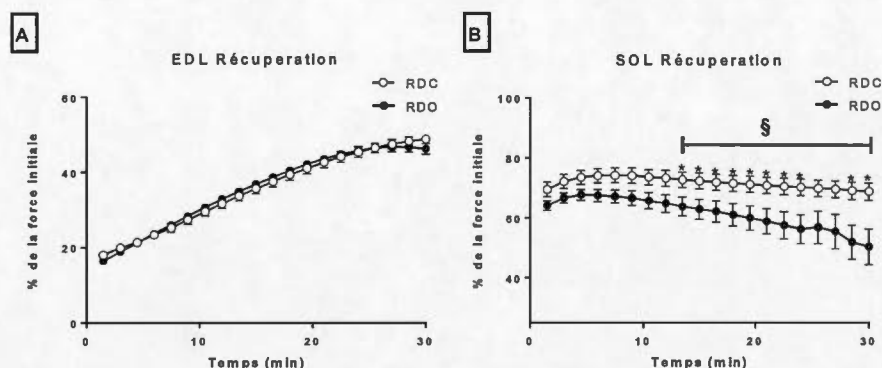


Figure 4.12: Courbes de récupération du muscle EDL et SOL
Données présentées en moyennes \pm erreur-type; EDL (RDC: $n=8$; RDO: $n=7$), SOL (RDC: $n=7$; RDO: $n=7$); * = $p<0,05$; § = Effet de groupe et de temps à partir de la 12e minute, $p<0,05$.

4.3 Expressions d'ARNm

L'expression de différents gènes a été affectée dans les muscles SOL et EDL. Les valeurs du Tableau 4.2 indiquent le facteur de multiplication (*Fold Change*) (RQ) du groupe RDO versus le groupe témoin RDC. Au niveau du muscle SOL, ACSS2 (gène codant pour l'ACS) est surexprimé tandis que ACTN3 est sous-exprimé ($p<0,05$) alors que dans le muscle EDL, le transporteur d'acides gras SLC27a4 (gène codant pour FATP 4) est surexprimé ($p<0,05$).

Tableau 4.2: Expression des gènes des muscles SOL et EDL

SOL			EDL		
GÈNES	RQ	Significativité	GÈNES	RQ	Significativité
Acaca	0.954	0.761	Acaca	0.962	0.544
ACSS2	1.19	0.039 *	ACSS2	1.307	0.04*
ACTN3	0.342	0.030 *	ACTN3	1.076	0.848
Cd36	1.207	0.389	Cd36	1.920	0.361
Cpt1b	1.377	0.019*	Cpt1b	1.274	0.127
Cpt2	1.43	0.052	Cpt2	1.260	0.125
DGAT1	1.400	0.018*	DGAT1	1.178	0.206
Fabp4	1.125	0.528	Fabp4	1.351	0.331
Fasn	1.321	0.366	Fasn	0.737	0.093
Lpl	1.057	0.446	Lpl	1.158	0.274
Pparg	1.301	0.270	Pparg	1.140	0.281
Ppargc1a	2.224	0.314	Ppargc1a	1.100	0.731
Slc27a4	1.225	0.022	Slc27a4	1.150	0.022 *
Ucp3	1.428	0.616	Ucp3	1.874	0.329
a. Les données sont présentées en <i>Fold Change</i> (RQ) comparativement au groupe contrôle.					
b. (RDC: n=4; RDO: n=3). * = p<0,05					

4.4 Imagerie par spectrométrie de masse MALDI

Les analyses du contenu en TG du muscle Sol (Tableau 4.3) démontrent une accumulation intramusculaire supérieure chez les animaux du groupe RDO. La valeur du *Fold Change* indique par quelle proportion la quantité de TG est multipliée en moyenne de 4,52 pour l'ensemble des TG, variant ainsi entre 1,3 fois (non significatif) pour les TG mono-oléique (TG 46 :1) à 8,2 fois ($p<0,00001$) pour les TG di-linoléique (TG 56 :5).

Tableau 4.3: Contenu en triglycérides du muscle SOL

TG	<i>m/z</i>	Fold Change	Significativité
(46:2)	797	2.4	p = 0.01165 #
(46:1)	799	1.3	p = 0.48066
(48:3)	823	2.4	p = 0.02027 *
(48:2)	825	3.3	p = 0.02682 *
(48:1)	827	4.7	p = 0.00656 #
(50:4)	849	2.7	p = 0.01258 *
(50:3)	851	2.3	p = 0.25623
(50:2)	853	5.5	p = 0.02157 *
(50:1)	855	6.4	p = 0.0043 #
(52:5)	875	2.7	p = 0.02354 *
(52:4)	877	4.8	p = 0.04007 *
(52:3)	879	5.8	p = 0.01618 *
(52:2)	881	6.2	p = 0.01458 *
(54:6)	901	3.6	p = 0.00104 #
(54:5)	903	5.8	p = 0.01149 *
(54:4)	905	7.4	p = 0.01849 *
(54:3)	907	6.8	p = 0.01699 *
(56:5)	931	8.2	p = 0.00001 #
(56:4)	933	3.6	p = 0.00054 #

a. Les données sont calculées à partir de la moyenne des spectres captés (RDC: n=5; RDO : n=4).

b. * = p<0,05 ; # = p<0,01

CHAPITRE V DISCUSSION

5.1 Données métaboliques

Le type de diète utilisée pour ce projet est riche en gras saturés et mono-insaturés, avec comme source principale de lipides du lard et de l'huile de soya. Cette diète permet d'induire une augmentation de 15% du poids chez les rats après une consommation continue de 120 jours (Buettner et al., 2007). Cependant, dans d'autres modèles d'excès calorique induit par la diète, l'obésité est associée à une diminution de la captation du glucose par le muscle squelettique après aussi peu que 14 jours (Song et al., 2001, Youngren et al., 2001), justifiant ainsi la durée du traitement de ce présent projet afin d'étudier l'étiologie de l'accumulation lipidique.

Dès les premiers jours, la réduction rapide du RER chez les rats du groupe RDO démontre une capacité d'utilisation rapide du métabolisme des lipides comme principale source d'énergie et cette oxydation prédominante des lipides se maintient tout au long du traitement. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par d'autres groupes (So et al., 2011, Trajcevski et al., 2013).

Durant les 14 jours de traitement, les changements de poids des rats ayant subi les deux diètes ont été similaires. Ces résultats sont consistants avec ceux obtenus chez des rats Wistar soumis à une diète obésogène (de composition similaire à celle utilisée dans le cadre de ce projet). En effet, chez ces animaux, aucune différence en gain de poids n'a pu être détectée avant la quatrième semaine de diète (So et al., 2011). Il est intéressant

de noter que les rats soumis au traitement RDO n'ont pas subi un gain de masse corporelle supérieur, et ce, en dépit du fait qu'ils aient eu des apports énergétiques moyens significativement plus élevés que les RDC. Ces résultats pourraient être expliqués par la différence dans la capacité de l'organisme à absorber certains nutriments de nature déterminée. Effectivement, plusieurs méthodes d'approximation de l'apport énergétique ne prennent pas systématiquement en considération la différence entre les diverses sources de glucides et de lipides consommées ni les pertes d'énergie obtenues lors de la digestion des différents nutriments. Dans le but d'obtenir une valeur de la consommation d'énergie plus précise, nous aurions pu déterminer, au moyen d'une bombe calorimétrique, les différences entre la valeur énergétique contenue dans l'alimentation et celle contenue dans les matières fécales, tel que réalisé par certains groupes (Papakonstantinou et al., 2003). De plus, il serait également pertinent de mesurer les modifications au niveau de la composition corporelle chez les animaux afin d'évaluer l'influence d'une diète obésogène sur le gain d'adiposité.

Compte tenu de la similarité des poids des animaux entre les deux traitements, nous pouvons penser qu'une plus grande quantité d'énergie est requise pour absorber les nutriments présents dans la diète RDO ou même encore qu'une plus grande quantité d'énergie est perdue, sous forme de chaleur, par l'urine et les matières fécales chez les rats RDO. La diète obésogène pourrait ainsi altérer le microbiote intestinale et modifier l'efficacité d'extraction de l'énergie des aliments, tel que proposé par un autre groupe (So et al., 2011), réduisant ainsi le potentiel d'énergie assimilable par les cellules chez les animaux RDO. La diète riche en matière grasse utilisée aurait donc une efficacité énergétique (ratio entre le gain de poids/ Kcal consommés) moindre considérant que les rats RDO ont consommé une quantité significativement supérieure de Kcal alors que leur gain de poids est demeuré semblable à celui des RDC. Cette évolution constante du gain de poids entre les deux traitements en dépit d'un surplus calorique chez les animaux soumis à une diète obésogène concorde également avec les

observations d'un groupe ayant soumis des rats à une diète riche en lipides (Ferramosca et al., 2014).

Lors de leurs prises alimentaires, les animaux sur une diète conventionnelle ont également consommés en moyenne par jour une quantité supérieure de nourriture comparativement à ceux qui étaient soumis à une diète obésogène. Ce comportement alimentaire, visant à diminuer la taille des repas, a déjà été observée chez des rats soumis à une diète riche en lipides avec un contenu énergétique très élevé (Ferramosca et al., 2014). Cet ajustement par les animaux de la taille des prises alimentaires, dans le but d'ingérer une quantité calorique digestible très similaire à celle des rats sur diète conventionnelle, a également été observé chez des rats sur une période de 8 semaines de diètes obésogène (So et al., 2011).

La différence au niveau de la consommation énergétique pourrait également être expliquée dans un premier temps par la palatabilité des deux diètes. Effectivement, alors que la diète conventionnelle était sous forme de grains condensés, celle offerte aux animaux RDO était sous forme purifiée. La palatabilité de la nourriture jouerait un rôle clé sur les comportements alimentaires, notamment en stimulant l'appétit, en repoussant la satiété et en engendrant une surconsommation énergétique (Johnson and Wardle, 2014). Il ne faut également pas exclure la possibilité que les rats n'aient tout simplement pas la diète obésogène, qui fut confectionnée en laboratoire, les menant ainsi à tout simplement réduire leur prise alimentaire. Somme toute, des valeurs davantage précises de l'énergie consommée et de l'énergie utilisée permettraient d'évaluer l'énergie réellement absorbée par les animaux et ainsi déterminer avec précision l'efficacité énergétique des diètes sur le gain de poids.

De plus, au niveau du déplacement volontaire des animaux durant la période nocturne, les RDO semblent être davantage actifs que les RDC au cours de la première semaine

de diète pour ensuite adopter un comportement qui tend vers la sédentarité. Ainsi, les dépenses énergétiques liées à l'activité physique seraient plus élevées lors de la première semaine chez les rats RDO pour ensuite chuter au cours de la deuxième semaine. Après 8 semaines de diète, une différence significative dans l'activité physique volontaire des rats a déjà été observée (So et al., 2011). Il serait donc possible de croire que cette réduction de l'activité physique s'instaure dès la fin de la première semaine pour poursuivre négativement sa progression au fil du temps, causant ainsi une diminution de la dépense énergétique et une augmentation du poids des animaux. Il est important de prendre en considération que le déplacement des animaux est la seule forme d'activité physique accessible à ces derniers lorsqu'ils sont en cages métaboliques. De ce fait, en regardant le déplacement ambulateur des animaux durant la deuxième semaine, il est possible de spéculer que les rats du groupe RDC ont eu davantage de stimulations musculaires, voire même un possible effet d'entraînement, versus ceux du groupe RDO. Cette différence au niveau des déplacements, et donc de l'activité physique volontaire, aurait ainsi pu mener à un meilleur développement des capacités musculaires chez les animaux RDC.

5.2 Performance musculaire

Au niveau de la force-fréquence absolue, les fréquences de 50 Hz et moins sont significativement moins élevées pour le muscle glycolytique EDL du groupe RDO tandis qu'à plus hautes fréquences, de 100 Hz à 150 Hz, aucune différence n'est détectée. Ces bases fréquences (50 Hz et moins) correspondent à des stimulations physiologiques de par leurs fusions téaniques incomplètes, c'est-à-dire des contractions où la fréquence de stimulation ne permet pas d'atteindre une fusion complète, ou encore une sommation des secousses sous la forme d'un plateau, communément appelé téanos (MacIntosh and Willis, 2000).

De plus, la force absolue ne tient pas compte des données anthropométriques des rats et ne démontre que la force brute générée par le muscle. Ainsi, lorsque nous avons normalisé ces forces en fonction de l'aire transversale, mesurée avec longueur optimale, le poids et la densité moyenne du muscle, nous avons observé une réduction de la force musculaire générée. Cette méthode de normalisation de la force en fonction de l'aire transversale du muscle est largement reconnue dans la littérature (Moorwood et al., 2013, Hakim et al., 2011, Chan and Head, 2010).

Les courbes de force-fréquence nous indiquent que dans le muscle SOL, qui est majoritairement oxydatif, la force maximale est atteinte à une fréquence se rapprochant de 120 Hz, expliquant ainsi la diminution de la force générée lors des stimulations supra-maximales de 150 Hz. De ce fait, le protocole de fatigue et de récupération a donc été réalisé à des fréquences de stimulation supra-maximales pour ce muscle, influençant possiblement sa capacité de résistance à la fatigue ainsi que sa capacité à récupérer. Certains groupes ont plutôt utilisé précédemment des fréquences de contraction de 90 et 110 Hz (Fitts and Holloszy, 1977, Elder and Vassallo, 1986) pour leurs protocoles de fatigue sur le muscle SOL, concordant davantage avec des fréquences de stimulation permettant un tetanos complet. Il serait donc pertinent pour le futur de diminuer la fréquence de stimulation lors du protocole de fatigue et de récupération du muscle SOL à une fréquence de 100 Hz. Ainsi, il est possible de penser qu'avec cette diminution de la fréquence, les muscles se préserveront davantage tout au long des stimulations.

Au cours du protocole de récupération, des analyses à mesures répétées ont permis de détecter un effet de temps et de groupe, avec une différence significative à partir de la douzième minute de récupération. En effet, à partir de ce moment, nous pouvons observer que la force générée par le groupe RDC reste constante tandis que celle du

groupe RDO diminue progressivement, suggérant une altération des propriétés contractiles après plusieurs contractions supra-maximales de 150 Hz. Les muscles SOL du groupe RDC résistent donc davantage à des contractions supra-maximales comparativement à ceux du groupe RDO, qui sembleraient plutôt se détériorer progressivement au fil du temps.

Pour ce qui est du muscle EDL, les courbes de force-fréquences indiquent qu'en termes de pourcentage de force maximale, les animaux du groupe RDO ne sont pas en mesure de générer autant de force que ceux du groupe RDC lors de stimulations de 50 Hz et moins. L'une des premières explications est que la perte de force par unité d'aire transversale des muscles du groupe RDO serait causée par une augmentation intramyocytaire de tissus non-contractiles. D'un point de vue fonctionnel, un excès de tissus adipeux intramusculaire chez des sujets obèses est également associé à une diminution de la force et de la puissance des muscles des membres inférieurs (Hilton et al., 2008). Cette présence de tissus non-contractiles, possiblement composés en grande majorité de dérivés lipidiques, influenceraient probablement à leur tour les liaisons entre les filaments d'actine et de myosine ou encore le couplage excitation-contraction, tel que déjà proposé (Chan and Head, 2010).

D'autre part, une alimentation chronique riche en lipides chez des souris induirait à long terme une atrophie des fibres musculaires ainsi qu'une réduction du nombre de cellules satellites dans les muscles squelettiques (Lee et al., 2015). Sachant que ces cellules satellites pluripotentes ont la capacité de se différencier en adipocytes (Starkey et al., 2011), on pourrait supposer qu'une diète obésogène engendrerait ainsi le processus de différenciation adipocytaire dans le muscle squelettique. D'autres chercheurs ont même observé une altération de la synthèse de protéines dans le *tibialis* antérieur, un muscle principalement glycolytique, alors qu'aucun changement n'ait été

détecté dans le muscle oxydatif SOL (Masgrau et al., 2012). Cette détérioration de la synthèse protéique et l'atrophie musculaire pourraient ainsi possiblement être en partie responsable de la réduction de la force musculaire.

À notre connaissance, nous sommes les premiers à observer une diminution de l'expression génique de l'ACTN3 au niveau du SOL suite à une consommation de 14 jours d'une diète riche en matière grasse chez de jeunes rats. Une réduction de la force musculaire, une diminution de la taille des fibres musculaires glycolytiques et une altération des propriétés ont déjà été observés par un autre groupe chez des souris déficientes en ACTN3 (MacArthur et al., 2008), suggérant ainsi une modification des propriétés contractiles des fibres glycolytiques vers des propriétés de fibres oxydatives (Berman and North, 2010). Bien que le muscle SOL soit majoritairement oxydatif, des fibres à contractions rapides s'y retrouvent malgré tout en très faible proportion. Sachant que la protéine ACTN3 est exprimée au niveau des fibres de type IIa mais pas au niveau des fibres de type I dans le SOL (Ichinoseki-Sekine et al., 2012), nos résultats suggèrent que la consommation d'une diète obésogène permet rapidement une diminution de l'expression de ces gènes dans un processus de remodelage du peu de fibres IIa présentes dans le muscle SOL vers des fibres de type I. Il serait donc pertinent d'aller regarder, en *Western Blot*, si la consommation d'une diète obésogène affecte l'expression en protéines de l'ACTN3, causant ainsi possiblement une réduction de la force musculaire.

D'autres part, il a également déjà été observé chez des souris C57 BLK/6J adultes soumises à une diète dont 45% des calories provenaient de lipides qu'après seulement 3 jours, l'expression de gènes associées à des fibres de type oxydatives dans des muscles principalement glycolytiques était plus élevé, suggérant ainsi un remodelage très rapide des fibres musculaires (de Wilde et al., 2008). Ce mécanisme

compensatoire, permettant de contrer une accumulation rapide de lipides, semblerait atteindre un point de rupture et s'estomper au fil du temps. Ainsi, après 1 an de diète obésogène, le remodelage des fibres musculaires s'orienterait plutôt vers un phénotype « hybride » de type IIA (Denies et al., 2014). Similairement, chez les humains obèses, un nombre inférieur de fibres de type oxydatives et supérieur de fibres de type glycolytiques est rapporté (Tanner et al., 2002).

Ce mécanisme pourrait ainsi affecter la force générée par le muscle en remodelant les fibres glycolytiques, qui sont reconnues pour être puissantes, vers un phénotype davantage oxydatif lors des premières semaines de consommation d'une diète obésogène. Il est ainsi possible de croire que ce mécanisme de remodelage permettrait une meilleure oxydation des lipides dans les muscles squelettiques en augmentant la proportion de fibres de type I, vu leur contenu riche en mitochondries.

Des analyses plus approfondies de phénotypage des fibres musculaires par coupes histologiques permettrait de déterminer si un remodelage des fibres musculaires vers un phénotype oxydatif s'est produit suite aux 14 jours de traitement obésogène. De plus, une analyse de la surface moyenne des fibres musculaires permettrait d'indiquer s'il y a un début d'atrophie musculaire chez les animaux RDO, donnant ainsi des indices supplémentaires sur les premiers mécanismes affectant la force générée par les muscles.

5.3 Accumulation lipidique intramusculaire

La méthode d'identification des TGs par imagerie par spectrométrie - MALDI nous permet de caractériser et localiser les différents TGs dans les tissus musculaires.

Nos analyses, effectuées uniquement sur le muscle SOL, démontrent une accumulation accrue de TGs intramusculaires dans les muscles oxydatifs du groupe RDO. Il est ainsi possible de spéculer que l'un des premiers mécanismes de compensation suite à une consommation excessive de lipides serait d'augmenter le transport et le stockage des acides gras et des TGs vers ces muscles oxydatifs. Tel qu'observé par d'autres groupes chez des souris soumis à une diète obésogène sur une période de 8 semaines (Liu et al., 2007), nos résultats indiquent que le gène DGAT-1, codant pour une enzyme essentielle à la synthèse des TGs dans le muscle, est surexprimé. Ce premier mécanisme compensatoire favoriserait ainsi l'accumulation de TGs dans le muscle squelettique, permettant d'utiliser ces derniers comme principal substrat énergétique. En effet, les muscles oxydatifs contiennent une quantité supérieure de mitochondries et donc une grande capacité d'oxydation des acides gras comparativement aux muscles glycolytiques qui sont composés de peu de mitochondries.

Le muscle SOL, qui a naturellement un contenu en TG supérieur aux muscles glycolytique, serait ainsi en mesure de compenser cette accumulation de lipides en utilisant principalement ces derniers comme principal substrat énergétique, comme précédemment observé par d'autres groupes ayant soumis des rats à une diète riche en lipides de 16 et 24 semaines (Masgrau et al., 2012). De plus, en soumettant des rats à une diète riche en matière grasse pendant trois semaines, on observe une accumulation significative de TG tout en induisant une résistance à l'insuline dans le muscle squelettique (Kraegen et al., 1991). Cet effet est probablement causé par une résistance à l'insuline, diminuant ainsi de l'absorption du glucose sanguin (Wilkes et al., 1998), en plus d'augmenter l'activité enzymatique de l'ACS et le contenu de LC-CoA dans le muscle gastrocnémien rouge (Ellis et al., 2000). Nos résultats d'analyse génique vont dans le même sens et indiquent également une surexpression de l'ACS, enzyme essentielle à la formation de *LC-CoA* par l'estérification des AGLs. Dans des conditions obésogènes, cette augmentation de *LC-CoA* est quant à elle ultimement

associé à une augmentation des intermédiaires lipidiques, tels que les DAG et céramides, fortement impliqués dans la pathogénèse de la résistance à l'insuline dans le muscle squelettique (Kewalramani et al., 2010).

D'autre part, durant une période de 8 semaines, les niveaux de triglycérides plasmatiques des rats consommant une diète riche en lipides atteignent des valeurs maximales vers la fin de la première semaine pour ensuite diminuer progressivement au fil du temps, tout en restant largement supérieures aux valeurs contrôle (Ferramosca et al., 2014). D'autre part, la capacité des tissus ectopiques à accumuler une quantité significative de TGs suite à une diète riche en matière grasse pendant une période de deux semaines a déjà été observée au niveau hépatique. Il est ainsi possible de croire que l'accumulation excessive de TG par les tissus ectopiques se produise très rapidement afin de contrebalancer avec cette hausse soudaine des niveaux de TG plasmatiques.

Bien que l'analyse par imagerie MALDI effectuée nous ait permis d'obtenir une caractérisation des TGs intramusculaires, nous ne savons pas ce qu'il advient des niveaux d'AGL, des DAG, des céramides ou d'autres formes d'espèces lipidiques ayant des effets néfastes sur le métabolisme. Ces dérivés lipidiques pourraient ainsi avoir une influence négative sur les propriétés contractiles du muscle, y augmentant ainsi la lipotoxicité et en agissant par exemple sur la voie de signalisation du récepteur à l'insuline et sur le transport du glucose. Une meilleure caractérisation de ces espèces lipidiques dans le muscle permettrait de mieux comprendre si ces derniers peuvent intervenir dans l'altération de la synthèse protéique des muscles squelettiques, affectant par le fait même les propriétés contractiles. Une fragmentation des triglycérides permettrait également de mieux distinguer les combinaisons d'acides gras qui les composent.

5.4 Transport, oxydation et métabolisme des acides gras

Au niveau du muscle glycolytique EDL, nous observons que le gène codant pour la protéine découplante *UCP3* tend à être surexprimé. L'expression de cette protéine causerait une augmentation de la thermogénèse dans le muscle squelettique en utilisant les acides gras et le glucose comme principaux substrats. Une augmentation des protéines *UCP3* dans le muscle squelettique a déjà été observée chez des modèles animaux (Chou et al., 2001), ainsi qu'au niveau des muscles contenant de nombreuses fibres de type IIa chez des humains sains (Schrauwen et al., 2001). Cependant, chez des rats soumis à une diète obésogène de 4 semaines, la surexpression du gène *UCP3* ne semblait pas influencer significativement l'homéostasie énergétique (Chou et al., 2001), suggérant ainsi l'implication significative d'autres mécanismes de contrôle. D'autre part, il a été démontré, autant *in vitro* que *in vivo*, que la surexpression d'*UCP3* est également un mécanisme compensatoire protecteur de l'organisme afin de contrer l'augmentation accrue de radicaux libres suite à la consommation d'une diète obésogène en diminuant la production ROS (Nabben et al., 2008, Schrauwen et al., 2010, Steinbacher and Eckl, 2015).

Par ailleurs, certains gènes codant pour le transport des acides gras et pour leur oxydation ont été surexprimés dans les muscles squelettiques SOL et EDL, suggérant ainsi qu'une consommation excessive de lipides permettrait d'augmenter l'expression des transporteurs d'acides gras tels que FATP4 et FAT/CD36 des muscles squelettiques. Il est intéressant également de noter que même les gènes codant pour les transporteurs d'acides gras au niveau des membranes mitochondriales, CPT I et II, sont surexprimés. Il est possible que cette augmentation de transporteurs d'acides gras

favorise l'oxydation d'espèces lipidiques via leur transport vers les nombreuses mitochondries des fibres de type oxydatif.

Cette augmentation significative de TGs intramusculaires est également retrouvée chez des hommes sains soumis à des diètes hypercaloriques de 3 jours. De plus, l'expression des gènes de FAT/CD36 et FABP de la membrane plasmique est surexprimée de 74% et 76% respectivement (Jordy et al., 2014). Toutefois, considérant la courte durée du traitement, l'augmentation de l'expression d'ARNm ne se traduit pas vers une augmentation significative des niveaux de dérivés lipidiques tels que les *LC-CoA*, *DAG* et céramides.

Il est cependant important de noter que nos résultats n'indiquent que les niveaux d'expressions d'ARNm en RT-qPCR. Ces niveaux ne représentent pas directement l'expression en protéine. De futures analyses en western blot nous permettraient de confirmer si cette surexpression des gènes se traduit bel et bien par une augmentation du niveau de protéines.

Plusieurs groupes proposent également que de soumettre des rats sains à une diète obésogène mènerait tout d'abord à une augmentation de la biogénèse mitochondriale, de l'oxydation des acides gras et de la proportion de fibres de type I dans le muscle squelettique (de Wilde et al., 2008, Matsakas and Patel, 2009).

Cependant, ces mécanismes d'adaptation sembleraient être présents uniquement dans les débuts du développement de l'obésité puisqu'à long terme, certains groupes ayant soumis des rats à une diète obésogène de 16 et 10 semaines respectivement ont observé

que l'accumulation continue de lipides dans le muscle mènerait plutôt à une augmentation de la lipotoxicité et, ultimement, à une dysfonction des capacités mitochondriales, autant dans les muscles glycolytiques (Masgrau et al., 2012) qu'oxydatifs (Kaneko et al., 2011).

De ces faits, l'augmentation de la concentration de lipides intramusculaires, telle que nous l'avons précédemment observée avec les TG dans le muscle SOL, améliorerait les capacités oxydatives des muscles squelettiques et mènerait vers une surexpression des gènes codants pour les transporteurs d'acides gras afin de permettre une meilleure captation et oxydation de ce substrat, ce qui est également proposé par certains (Turner et al., 2007). Il est intéressant de noter que cette augmentation des capacités oxydatives suivie d'une surexpression des transporteurs d'acides gras peut également être retrouvée en réponse à une activité physique alors que les muscles glycolytiques EDL et *tibialis* antérieur développaient une meilleure capacité de captation des acides gras ainsi qu'une surexpression du gène FAT/CD36 (Bonen et al., 1999).

De manière spéculative, l'augmentation de l'oxydation des acides gras par les mitochondries suite à une courte période de consommation de diète obésogène causerait en premier lieu une augmentation du nombre de mitochondries dans le muscle ainsi qu'une amélioration de leurs fonctions, tel qu'également observé après une diète riche en lipides de 5 semaines (Hancock et al., 2008). Cependant, au fil du temps, une augmentation progressive du stress oxydatif et des anions superoxydes s'installeraient dans les cellules musculaires. Ce serait alors cette augmentation du stress oxydatif, tel que proposé par d'autres (Anderson et al., 2009), qui causerait ultimement une diminution de la sensibilité à l'insuline ainsi qu'une détérioration des fonctions mitochondriales (Houstis et al., 2006).

Suite à une consommation prolongée d'une diète riche en lipide, il serait ainsi possible que la surabondance des lipides engendre une captation excessive de ce substrat par la cellule, causant ainsi un débalancement dans l'homéostasie réduction/oxydation (*Redox state*) par l'apparition de dérivés lipidiques et de *ROS*. Au niveau du muscle squelettique, l'augmentation du stress oxydatif et, notamment des *ROS*, influencerait négativement la production de force (Powers et al., 2011), possiblement en altérant la structure et les fonctions des myofilaments, net plus particulièrement en oxydant les chaînes lourdes de myosine (Yamada et al., 2006).

CHAPITRE VI SOMMAIRE ET CONCLUSION

Par ce projet de recherche, nous voulions mieux comprendre les mécanismes précoces influençant l'accumulation lipidique excessive dans le muscle squelettique et en évaluer les effets sur les fonctions musculaires chez des jeunes rats. En soumettant des rats à une diète obésogène de deux semaines, aucune différence en gain de poids a pu être détectée alors qu'une augmentation de l'apport énergétique quotidien et une réduction de la masse de nourriture consommée ont été observées. Cette réduction de la taille des repas semblait donc compenser pour la teneur hypercalorique de la diète au cours des premiers jours. D'autres parts, le comportement des rats en cage métabolique s'est modifié au fil du temps, où les animaux sur une diète riche en gras semblaient diminuer leur locomotion afin d'adopter un mode de vie davantage sédentaire vers la fin des 14 jours.

Au niveau de l'analyse des fonctions musculaires, nous avons été en mesure d'observer avec notre modèle les répercussions de la consommation d'une diète obésogène sur les propriétés contractiles. De ce fait, malgré une accumulation excessive de triglycérides dans les muscles squelettiques SOL, principalement oxydatifs, ni la force de contractilité maximale, ni la résistance à la fatigue n'a été altérée. Cependant, la capacité de récupération du muscle suite à des fréquences supra-maximales a été négativement influencée chez les animaux consommant une diète obésogène. En ce qui concerne le muscle glycolytique EDL, bien que nous n'ayons pas le profil des triglycérides intramusculaires, la capacité à résister à la fatigue musculaire s'est trouvée négativement affectée par la consommation d'une diète obésogène, tout

comme la production de force pour chaque fréquence de stimulation. Plusieurs éléments semblent pouvoir affecter la production de force dans le muscle squelettique, tel qu'une altération de la synthèse protéique, une augmentation de la différenciation des cellules satellites pluripotentes en adipocytes ou encore une augmentation de la production de radicaux libres.

Actuellement, nous possédons uniquement le profilage des TGs dans le muscle SOL et des analyses supplémentaires du profilage lipidique complet des muscles EDL et SOL nous permettraient d'obtenir la composition exacte des espèces lipidiques intramusculaires. Nous pouvons ainsi penser que certains de ces dérivés lipidiques, tels les DAG et les céramides, ont des répercussions davantage néfastes sur les fonctions musculaires, notamment en augmentant le stress oxydatif et en promouvant la résistance à l'insuline en affectant possiblement la voie de signalisation PI3K. Une éventuelle analyse de la voie de signalisation du récepteur à l'insuline sera éventuellement nécessaire afin de confirmer ces effets.

Nos résultats d'analyses d'expressions géniques ne sont que préliminaires en raison d'un petit échantillonnage et l'objectif second de ce mémoire en était ainsi. Une diète obésogène de deux semaines semblerait toutefois induire une surexpression des gènes impliqués dans le transport des acides gras tels que les FATP, FAT/CD36 et CPT I et II ainsi qu'une surexpression de l'enzyme ACS, responsable de l'estérification des AGLs. Une diminution du gène ACTN3 dans les fibres musculaires glycolytiques semble également résulter d'un excès de lipides alimentaires. Bien que cela aille au-delà des objectifs visés par ce mémoire, une augmentation de notre échantillon permettrait de valider statistiquement nos observations.

L'augmentation des transporteurs d'acides gras permettrait ainsi une meilleure oxydation des lipides par les mitochondries situées dans les muscles squelettiques. Selon nous, cette augmentation de l'oxydation des lipides pourrait vraisemblablement induire une augmentation accrue du stress oxydatif dans les cellules musculaires, menant ultimement à un point de rupture de l'homéostasie métabolique. Des observations précédentes indiquent que 3 à 8 semaines de diète obésogène seraient en mesure de permettre l'atteinte de ce point de rupture. Dans notre modèle de jeunes rats, ce point de rupture semblerait donc se situer à environ 2 semaines de diète. Le stress oxydatif et la production accrue de ROS altèrent ainsi la production de force en déséquilibrant l'équilibre d'oxydoréduction présente dans l'organisme. Une analyse ultérieure des fonctions mitochondriales sur des fibres perméabilisées permettrait d'évaluer les capacités des différents complexes de la chaîne de transport d'électron et voir leur réponse face à l'ajout de différents substrats en plus de mesurer différents marqueurs du stress oxydatif. De plus, il serait éventuellement intéressant de mesurer la variation des niveaux d'antioxydants, tel que le glutathion qui joue un rôle majeur de protection contre les radicaux libres, chez les animaux soumis à une diète obésogène afin d'identifier des mécanismes précoces permettant de combattre l'augmentation du stress oxydatif au niveau des cellules musculaires.

Notre modèle de recherche, actuellement unique en son genre, nous permet ainsi d'observer qu'en soumettant des jeunes rats à une diète riche en lipides, les fonctions musculaires et propriétés contractiles des muscles semblent négativement affectées et ce, majoritairement au niveau des muscles glycolytiques. De ce fait, plusieurs groupes proposent un remodelage rapide des fibres musculaires vers un phénotype davantage oxydatif lors d'un apport excessif en lipides, ce qui pourrait expliquer l'altération des fonctions musculaires des muscles EDL. Cependant, des analyses en immunohistochimie permettraient d'identifier si deux semaines ont suffi pour créer un remodelage des fibres musculaires chez de jeunes rats. Nous pensons que dans ce

contexte de croissance, où les rats sont dans une période pré-pubère au début de la diète, que le remodelage des fibres pourrait possiblement se produire très rapidement.

L'obésité est l'un des principaux facteurs de risque associé aux diverses maladies métaboliques et il est primordial de bien comprendre les mécanismes pouvant influencer l'étiologie de l'accumulation lipidique dans les tissus ectopiques, souvent associés à la lipotoxicité. La présente recherche chez de jeunes rats en développement nous a permis de constater que la réponse métabolique engendrée par une consommation de 14 jours d'une diète riche en lipides permettait d'induire des effets néfastes sur les fonctions musculaires en diminuant la force maximale générée par les muscles EDL et SOL. Nous pensons que cette altération des propriétés contractiles persistera et s'aggravera au fil du temps si aucune modification n'est apportée à la diète ou bien aux habitudes de vie. Cette réduction de la force musculaire risquera ainsi d'engendrer de nombreuses complications chez les sujets et ce, autant à court terme qu'à long terme. Les plus récentes statistiques démontrent une proportion croissante d'obésité chez les enfants et nos résultats indiquent qu'une alimentation riche en lipides aura des répercussions négatives sur le métabolisme, sur la sédentarité et sur les fonctions musculaires. Or, nos résultats suggèrent que la consommation d'une diète riche en lipides pendant deux semaines pourrait induire une réduction de la force musculaire. D'un point de vue clinique, ces effets néfastes sur les capacités musculaires pourraient se traduire par une augmentation de la prévalence du syndrome métabolique, une diminution de la sensibilité à l'insuline et des capacités athlétiques ainsi qu'une altération de la densité osseuse à l'âge adulte chez les sujets.

Nous constatons également que certaines espèces lipidiques seraient davantage accumulées dans les tissus ectopiques tandis que d'autres sembleraient être plus rapidement oxydées. Ces résultats suggèrent que le gain énergétique suite à une diète

obésogène dépendrait fortement de la composition lipidique de celle-ci. L'utilisation des analyses en lipidomique permettrait ainsi de développer des diètes spécifiques aidant à prévenir les dysfonctions métaboliques. Ainsi, cette meilleure compréhension de l'utilisation des substrats énergétiques et leur stockage au niveau musculaire permettrait également de suggérer certaines pistes thérapeutiques pour contrer le développement des maladies métaboliques.

ANNEXES

Annexe A : composition de la diète conventionnelle

		5075
		CHARLES RIVER 18% AUTOCLAVABLE RODENT CHOW
CHEMICAL COMPOSITION*		
NUTRIENTS**		
GENERAL CONSTITUENTS		
Crude Protein, %	18.1	Calcium, % 0.97
Crude Fat, %	4.5	Phosphorus, % 0.85
Crude Fibre, %	3.4	Potassium, % 0.67
Ash, %	6.7	Magnesium, % 0.17
Nitrogen Free Extract (by difference), %	57.3	Sodium, % 0.30
CHEMICAL CONSTITUENTS		
Neutral Detergent Fibre (NDF), %	14.1	Chloride, % 0.54
Acid Detergent Fibre (ADF), %	4.6	Fluorine (max.), mg/kg 35.00
		Iron, mg/kg 170.00
		Zinc, mg/kg 70.00
		Manganese, mg/kg 87.00
		Copper, mg/kg 12.00
		Cobalt, mg/kg 0.34
		Iodine, mg/kg 0.50
ENERGY		
Total Digestible Nutrients (TDN), %	75.0	Selenium, mg/kg 0.20
Gross Energy (GE), kcal/g	4.1	
Physiological Fuel Value*** (PFV), kcal/g	3.4	
AMINO ACIDS		
Arginine, %	0.99	VITAMINS
Cysteine, %	0.46	Menadione (added), mg/kg 8.8
Glycine, %	0.83	Thiamin, mg/kg 80.0
Histidine, %	0.40	Riboflavin, mg/kg 7.0
Isoleucine, %	0.70	Niacin, mg/kg 98.0
Leucine, %	1.28	Pantothenic Acid, mg/kg 30.0
Lysine, %	1.06	Choline, mg/g 1.6
Methionine, %	0.39	Folic Acid, mg/kg 8.0
Phenylalanine, %	0.82	Pyridoxine, mg/kg 9.0
Tyrosine, %	0.51	Biotin, mcg/kg 350
Threonine, %	0.63	Vitamin B ₁₂ , mcg/kg 26
Tryptophan, %	0.22	Vitamin A, IU/g 41
Valine, %	0.83	Vitamin D ₃ , IU/g 2.2
		Vitamin E, IU/kg 90

Annexe B : composition de la diète obésogène

Product #	D12492	
	gm%	kcal%
Protein	26	20
Carbohydrate	26	20
Fat	35	60
Total		100
kcal/gm	5.24	
Ingredient	gm	kcal
Casein, 30 Mesh	200	800
L-Cystine	3	12
Corn Starch	0	0
Maltodextrin 10	125	500
Sucrose	68.8	275
Cellulose, BW200	50	0
Soybean Oil	25	225
Lard	245	2205
Mineral Mix S10026	10	0
DiCalcium Phosphate	13	0
Calcium Carbonate	5.5	0
Potassium Citrate, 1 H ₂ O	16.5	0
Vitamin Mix V10001	10	40
Choline Bitartrate	2	0
FD&C Red Dye #40		
FD&C Blue Dye #1	0.05	0
Total	773.85	4057

*Typical analysis of cholesterol in
lard = 72 mg per 100 gram.

RÉFÉRENCES

- AMIN, R. H., MATHEWS, S. T., CAMP, H. S., DING, L. & LEFF, T. 2010. Selective activation of PPARgamma in skeletal muscle induces endogenous production of adiponectin and protects mice from diet-induced insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 298, E28-37.
- ANDERSEN, J. L., SCHJERLING, P., ANDERSEN, L. L. & DELA, F. 2003. Resistance training and insulin action in humans: effects of de-training. *The Journal of Physiology*, 551, 1049-1058.
- ANDERSON, E. J., LUSTIG, M. E., BOYLE, K. E., WOODLIEF, T. L., KANE, D. A., LIN, C. T., PRICE, J. W., 3RD, KANG, L., RABINOVITCH, P. S., SZETO, H. H., HOUMARD, J. A., CORTRIGHT, R. N., WASSERMAN, D. H. & NEUFER, P. D. 2009. Mitochondrial H₂O₂ emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans. *J Clin Invest*, 119, 573-81.
- ANTUNA-PUENTE, B., FEVE, B., FELLAHI, S. & BASTARD, J. P. 2008. Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes Metab*, 34, 2-11.
- BAAR, K., WENDE, A. R., JONES, T. E., MARISON, M., NOLTE, L. A., CHEN, M., KELLY, D. P. & HOLLOSZY, J. O. 2002. Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. *FASEB J*, 16, 1879-86.
- BARANY, M. 1967. ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening. *J Gen Physiol*, 50, Suppl:197-218.
- BARNEKOW-BERGKVIST, M., HEDBERG, G., PETTERSSON, U. & LORENTZON, R. 2006. Relationships between physical activity and physical capacity in adolescent females and bone mass in adulthood. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 16, 447-455.

- BAYLOR, S. M. & HOLLINGWORTH, S. 2012. Intracellular calcium movements during excitation-contraction coupling in mammalian slow-twitch and fast-twitch muscle fibers. *J Gen Physiol*, 139, 261-72.
- BERGER, J. & MOLLER, D. E. 2002. The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med*, 53, 409-35.
- BERMAN, Y. & NORTH, K. N. 2010. A gene for speed: the emerging role of alpha-actinin-3 in muscle metabolism. *Physiology (Bethesda)*, 25, 250-9.
- BONEN, A., DYCK, D. J., IBRAHIMI, A. & ABUMRAD, N. A. 1999. Muscle contractile activity increases fatty acid metabolism and transport and FAT/CD36. *Am J Physiol*, 276, E642-9.
- BONNARD, C., DURAND, A., PEYROL, S., CHANSEAUME, E., CHAUVIN, M. A., MORIO, B., VIDAL, H. & RIEUSSET, J. 2008. Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletal muscle of diet-induced insulin-resistant mice. *J Clin Invest*, 118, 789-800.
- BOREN, J., TASKINEN, M. R., OLOFSSON, S. O. & LEVIN, M. 2013. Ectopic lipid storage and insulin resistance: a harmful relationship. *J Intern Med*, 274, 25-40.
- BRAWER, R., BRISBON, N. & PLUMB, J. 2009. Obesity and cancer. *Prim Care*, 36, 509-31.
- BROOKS, S. V. & FAULKNER, J. A. 1988. Contractile properties of skeletal muscles from young, adult and aged mice. *J Physiol*, 404, 71-82.
- BUETTNER, R., SCHOLMERICH, J. & BOLLHEIMER, L. C. 2007. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity (Silver Spring)*, 15, 798-808.
- CANEPARI, M., PELLEGRINO, M. A., D'ANTONA, G. & BOTTINELLI, R. 2010. Single muscle fiber properties in aging and disuse. *Scand J Med Sci Sports*, 20, 10-9.
- CHAN, S. & HEAD, S. I. 2010. Age- and gender-related changes in contractile properties of non-atrophied EDL muscle. *PLoS One*, 5, e12345.
- CHOU, C. J., CHA, M. C., JUNG, D. W., BOOZER, C. N., HASHIM, S. A. & PI-SUNYER, F. X. 2001. High-fat diet feeding elevates

- skeletal muscle uncoupling protein 3 levels but not its activity in rats. *Obes Res*, 9, 313-9.
- CLARKSON, P. M., DEVANEY, J. M., GORDISH-DRESSMAN, H., THOMPSON, P. D., HUBAL, M. J., URSO, M., PRICE, T. B., ANGELOPOULOS, T. J., GORDON, P. M., MOYNA, N. M., PESCATELLO, L. S., VISICH, P. S., ZOELLER, R. F., SEIP, R. L. & HOFFMAN, E. P. 2005. ACTN3 genotype is associated with increases in muscle strength in response to resistance training in women. *J Appl Physiol* (1985), 99, 154-63.
- CLOSE, R. & HOH, J. F. 1968. The after-effects of repetitive stimulation on the isometric twitch contraction of rat fast skeletal muscle. *J Physiol*, 197, 461-77.
- COLLIN, P., CHAPADOS, N., DUFRESNE, E., CORRIVEAU, P., IMBEAULT, P. & LAVOIE, J. M. 2006. Time course of changes in in vitro lipolysis of intra-abdominal fat depots in relation to high-fat diet-induced hepatic steatosis in rats. *Br J Nutr*, 96, 268-75.
- CONSITT, L. A., BELL, J. A. & HOUMARD, J. A. 2009. Intramuscular lipid metabolism, insulin action, and obesity. *IUBMB Life*, 61, 47-55.
- DAVIES, K. J., QUINTANILHA, A. T., BROOKS, G. A. & PACKER, L. 1982. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun*, 107, 1198-205.
- DE JONGE, L. & BRAY, G. A. 1997. The thermic effect of food and obesity: a critical review. *Obes Res*, 5, 622-31.
- DE WILDE, J., MOHREN, R., VAN DEN BERG, S., BOEKSCHOTEN, M., DIJK, K. W., DE GROOT, P., MULLER, M., MARIMAN, E. & SMIT, E. 2008. Short-term high fat-feeding results in morphological and metabolic adaptations in the skeletal muscle of C57BL/6J mice. *Physiol Genomics*, 32, 360-9.
- DEFRONZO, R. A. & TRIPATHY, D. 2009. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 32 Suppl 2, S157-63.
- DENIES, M. S., JOHNSON, J., MALIPHOL, A. B., BRUNO, M., KIM, A., RIZVI, A., RUSTICI, K. & MEDLER, S. 2014. Diet-induced obesity alters skeletal muscle fiber types of male but not female mice. *Physiol Rep*, 2, e00204.

- DIAZ, M. B., HERZIG, S. & VEGIOPOULOS, A. 2014. Thermogenic adipocytes: From cells to physiology and medicine. *Metabolism*, 63, 1238-1249.
- DODSON, M. V., HAUSMAN, G. J., GUAN, L., DU, M., RASMUSSEN, T. P., POULOS, S. P., MIR, P., BERGEN, W. G., FERNYHOUGH, M. E., MCFARLAND, D. C., RHOADS, R. P., SORET, B., REECY, J. M., VELLEMAN, S. G. & JIANG, Z. 2010. Skeletal muscle stem cells from animals I. Basic cell biology. *Int J Biol Sci*, 6, 465-74.
- ELDER, G. C. & VASSALLO, F. 1986. Histochemical and contractile properties of soleus muscle trained during development. *Pflugers Arch*, 407, 166-9.
- ELLIS, B. A., POYNTEN, A., LOWY, A. J., FURLER, S. M., CHISHOLM, D. J., KRAEGEN, E. W. & COONEY, G. J. 2000. Long-chain acyl-CoA esters as indicators of lipid metabolism and insulin sensitivity in rat and human muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 279, E554-60.
- FANTUZZI, G. 2005. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 115, 911-9; quiz 920.
- FERRAMOSCA, A., CONTE, A., DAMIANO, F., SICULELLA, L. & ZARA, V. 2014. Differential effects of high-carbohydrate and high-fat diets on hepatic lipogenesis in rats. *Eur J Nutr*, 53, 1103-14.
- FITTS, R. H. & HOLLOSZY, J. O. 1977. Contractile properties of rat soleus muscle: effects of training and fatigue. *Am J Physiol*, 233, C86-91.
- GAUTEL, M. 2011. The sarcomeric cytoskeleton: who picks up the strain? *Curr Opin Cell Biol*, 23, 39-46.
- GEHLERT, S., WEBER, S., WEIDMANN, B., GUTSCHE, K., PLATEN, P., GRAF, C., KAPPES-HORN, K. & BLOCH, W. 2012. Cycling exercise-induced myofiber transitions in skeletal muscle depend on basal fiber type distribution. *Eur J Appl Physiol*, 112, 2393-402.
- GIAMMANCO, A., CEFALU, A. B., NOTO, D. & AVERNA, M. R. 2015. The pathophysiology of intestinal lipoprotein production. *Front Physiol*, 6, 61.
- GIMENO, R. E., DEMBSKI, M., WENG, X., DENG, N., SHYJAN, A. W., GIMENO, C. J., IRIS, F., ELLIS, S. J., WOOLF, E. A. &

- TARTAGLIA, L. A. 1997. Cloning and characterization of an uncoupling protein homolog: a potential molecular mediator of human thermogenesis. *Diabetes*, 46, 900-6.
- GOMEZ, J., NECO, P., DIFRANCO, M. & VERGARA, J. L. 2006. Calcium release domains in mammalian skeletal muscle studied with two-photon imaging and spot detection techniques. *J Gen Physiol*, 127, 623-37.
- GOODPASTER, B. H., HE, J., WATKINS, S. & KELLEY, D. E. 2001. Skeletal muscle lipid content and insulin resistance: evidence for a paradox in endurance-trained athletes. *J Clin Endocrinol Metab*, 86, 5755-61.
- GRICHKO, V. P., HEYWOOD-COOKSEY, A., KIDD, K. R. & FITTS, R. H. 2000. Substrate profile in rat soleus muscle fibers after hindlimb unloading and fatigue. *J Appl Physiol* (1985), 88, 473-8.
- HAKIM, C. H., LI, D. & DUAN, D. 2011. Monitoring murine skeletal muscle function for muscle gene therapy. *Methods Mol Biol*, 709, 75-89.
- HAKIM, C. H., WASALA, N. B. & DUAN, D. 2013. Evaluation of muscle function of the extensor digitorum longus muscle ex vivo and tibialis anterior muscle in situ in mice. *J Vis Exp*.
- HANCOCK, C. R., HAN, D. H., CHEN, M., TERADA, S., YASUDA, T., WRIGHT, D. C. & HOLLOSZY, J. O. 2008. High-fat diets cause insulin resistance despite an increase in muscle mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105, 7815-20.
- HASLAM, D. W. & JAMES, W. P. 2005. Obesity. *Lancet*, 366, 1197-209.
- HELLERSTEIN, M. K. 1999. De novo lipogenesis in humans: metabolic and regulatory aspects. *Eur J Clin Nutr*, 53 Suppl 1, S53-65.
- HEPPNER, K. M., PIECHOWSKI, C. L., MULLER, A., OTTAWAY, N., SISLEY, S., SMILEY, D. L., HABEGGER, K. M., PFLUGER, P. T., DIMARCHI, R., BIEBERMANN, H., TSCHOP, M. H., SANDOVAL, D. A. & PEREZ-TILVE, D. 2013. Both acyl and desacyl ghrelin regulate adiposity and glucose metabolism via CNS ghrelin receptors. *Diabetes*.
- HICKEY, M. S., CAREY, J. O., AZEVEDO, J. L., HOUMARD, J. A., PORIES, W. J., ISRAEL, R. G. & DOHM, G. L. 1995. Skeletal

- muscle fiber composition is related to adiposity and in vitro glucose transport rate in humans. *Am J Physiol*, 268, E453-7.
- HILTON, T. N., TUTTLE, L. J., BOHNERT, K. L., MUELLER, M. J. & SINACORE, D. R. 2008. Excessive adipose tissue infiltration in skeletal muscle in individuals with obesity, diabetes mellitus, and peripheral neuropathy: association with performance and function. *Phys Ther*, 88, 1336-44.
- HOLM, C. 2003. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. *Biochem Soc Trans*, 31, 1120-4.
- HONKOLA, A., FORSÉN, T. & ERIKSSON, J. 1997. Resistance training improves the metabolic profile in individuals with type 2 diabetes. *Acta Diabetologica*, 34, 245-248.
- HOUSTIS, N., ROSEN, E. D. & LANDER, E. S. 2006. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature*, 440, 944-8.
- ICHINOSEKI-SEKINE, N., YOSHIHARA, T., KAKIGI, R., OGURA, Y., SUGIURA, T. & NAITO, H. 2012. Fiber-type specific expression of alpha-actinin isoforms in rat skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun*, 419, 401-4.
- IQBAL, J. & HUSSAIN, M. M. 2009. Intestinal lipid absorption. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 296, E1183-94.
- JANSSEN, I., HEYMSFIELD, S. B., WANG, Z. M. & ROSS, R. 2000. Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18-88 yr. *J Appl Physiol* (1985), 89, 81-8.
- JEUKENDRUP, A. E. 2002. Regulation of fat metabolism in skeletal muscle. *Ann N Y Acad Sci*, 967, 217-35.
- JOHNSON, F. & WARDLE, J. 2014. Variety, palatability, and obesity. *Adv Nutr*, 5, 851-9.
- JORDY, A. B., SERUP, A. K., KARSTOFT, K., PILEGAARD, H., KIENS, B. & JEPPESEN, J. 2014. Insulin Sensitivity is Independent of Lipid Binding Protein Trafficking at the Plasma Membrane in Human Skeletal Muscle: Effect of a 3-day, High-fat Diet. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*.
- JURCA, R., LAMONTE, M. J., BARLOW, C. E., KAMPERT, J. B., CHURCH, T. S. & BLAIR, S. N. 2005. Association of muscular

- strength with incidence of metabolic syndrome in men. *Med Sci Sports Exerc*, 37, 1849-55.
- KADOWAKI, T., HARA, K., KUBOTA, N., TOBE, K., TERAUCHI, Y., YAMAUCHI, T., ETO, K., KADOWAKI, H., NODA, M., HAGURA, R. & AKANUMA, Y. 2002. The role of PPARgamma in high-fat diet-induced obesity and insulin resistance. *J Diabetes Complications*, 16, 41-5.
- KANEKO, S., IIDA, R. H., SUGA, T., FUKUI, T., MORITO, M. & YAMANE, A. 2011. Changes in triacylglycerol-accumulated fiber type, fiber type composition, and biogenesis in the mitochondria of the soleus muscle in obese rats. *Anat Rec (Hoboken)*, 294, 1904-12.
- KELLEY, D. E. & GOODPASTER, B. H. 2001. Skeletal muscle triglyceride. An aspect of regional adiposity and insulin resistance. *Diabetes Care*, 24, 933-41.
- KERSTEN, S. 2014. Physiological regulation of lipoprotein lipase. *Biochim Biophys Acta*, 1841, 919-33.
- KEWALRAMANI, G., BILAN, P. J. & KLIP, A. 2010. Muscle insulin resistance: assault by lipids, cytokines and local macrophages. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 13, 382-90.
- KRAEGER, E. W., CLARK, P. W., JENKINS, A. B., DALEY, E. A., CHISHOLM, D. J. & STORLIEN, L. H. 1991. Development of muscle insulin resistance after liver insulin resistance in high-fat-fed rats. *Diabetes*, 40, 1397-403.
- KRAUSS, S., ZHANG, C. Y. & LOWELL, B. B. 2005. The mitochondrial uncoupling-protein homologues. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 6, 248-61.
- KRUGER, K., GESSNER, D. K., SEIMETZ, M., BANISCH, J., RINGSEIS, R., EDER, K., WEISSMANN, N. & MOOREN, F. C. 2013. Functional and muscular adaptations in an experimental model for isometric strength training in mice. *PLoS One*, 8, e79069.
- LEE, H., LEE, I. S. & CHOU, R. 2013. Obesity, Inflammation and Diet. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*, 16, 143-152.
- LEE, S. R., KHAMOUI, A. V., JO, E., PARK, B. S., ZOURDOS, M. C., PANTON, L. B., ORMSBEE, M. J. & KIM, J. S. 2015. Effects of chronic high-fat feeding on skeletal muscle mass and function in middle-aged mice. *Aging Clin Exp Res*.

- LIN, J., WU, H., TARR, P. T., ZHANG, C. Y., WU, Z., BOSS, O., MICHAEL, L. F., PUIGSERVER, P., ISOTANI, E., OLSON, E. N., LOWELL, B. B., BASSEL-DUBY, R. & SPIEGELMAN, B. M. 2002. Transcriptional co-activator PGC-1 α drives the formation of slow-twitch muscle fibres. *Nature*, 418, 797-801.
- LIU, L., ZHANG, Y., CHEN, N., SHI, X., TSANG, B. & YU, Y. H. 2007. Upregulation of myocellular DGAT1 augments triglyceride synthesis in skeletal muscle and protects against fat-induced insulin resistance. *J Clin Invest*, 117, 1679-89.
- MACARTHUR, D. G., SETO, J. T., CHAN, S., QUINLAN, K. G., RAFTERY, J. M., TURNER, N., NICHOLSON, M. D., KEE, A. J., HARDEMAN, E. C., GUNNING, P. W., COONEY, G. J., HEAD, S. I., YANG, N. & NORTH, K. N. 2008. An Actn3 knockout mouse provides mechanistic insights into the association between alpha-actinin-3 deficiency and human athletic performance. *Hum Mol Genet*, 17, 1076-86.
- MACINTOSH, B. R. & WILLIS, J. C. 2000. Force-frequency relationship and potentiation in mammalian skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985), 88, 2088-96.
- MARTINS, A. R., NACHBAR, R. T., GORJAO, R., VINOLO, M. A., FESTUCCIA, W. T., LAMBERTUCCI, R. H., CURY-BOAVENTURA, M. F., SILVEIRA, L. R., CURI, R. & HIRABARA, S. M. 2012. Mechanisms underlying skeletal muscle insulin resistance induced by fatty acids: importance of the mitochondrial function. *Lipids Health Dis*, 11, 30.
- MASGRAU, A., MISHELLANY-DUTOIR, A., MURAKAMI, H., BEAUFRERE, A. M., WALRAND, S., GIRAUDET, C., MIGNE, C., GERBAIX, M., METZ, L., COURTEIX, D., GUILLET, C. & BOIRIE, Y. 2012. Time-course changes of muscle protein synthesis associated with obesity-induced lipotoxicity. *J Physiol*, 590, 5199-210.
- MATSAKAS, A. & PATEL, K. 2009. Skeletal muscle fibre plasticity in response to selected environmental and physiological stimuli. *Histol Histopathol*, 24, 611-29.
- MEDINA-GOMEZ, G. & VIDAL-PUIG, A. 2009. [Adipose tissue as a therapeutic target in obesity]. *Endocrinol Nutr*, 56, 404-11.

- MENDEZ, J. & KEYS, A. 1960. DENSITY AND COMPOSITION OF MAMMALIAN MUSCLE. *Metabolism-Clinical and Experimental*, 9, 184-188.
- MICHAEL, L. F., WU, Z., CHEATHAM, R. B., PUIGSERVER, P., ADELMANT, G., LEHMAN, J. J., KELLY, D. P. & SPIEGELMAN, B. M. 2001. Restoration of insulin-sensitive glucose transporter (GLUT4) gene expression in muscle cells by the transcriptional coactivator PGC-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98, 3820-5.
- MIEGUEU, P., ST PIERRE, D., BROGLIO, F. & CIANFLONE, K. 2011. Effect of desacyl ghrelin, obestatin and related peptides on triglyceride storage, metabolism and GHSR signaling in 3T3-L1 adipocytes. *J Cell Biochem*, 112, 704-14.
- MILLS, M., YANG, N., WEINBERGER, R., VANDER WOUDE, D. L., BEGGS, A. H., EASTEAL, S. & NORTH, K. 2001. Differential expression of the actin-binding proteins, alpha-actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. *Hum Mol Genet*, 10, 1335-46.
- MOORWOOD, C., LIU, M., TIAN, Z. & BARTON, E. R. 2013. Isometric and eccentric force generation assessment of skeletal muscles isolated from murine models of muscular dystrophies. *J Vis Exp*, e50036.
- MOOTHA, V. K., LINDGREN, C. M., ERIKSSON, K. F., SUBRAMANIAN, A., SIHAG, S., LEHAR, J., PUIGSERVER, P., CARLSSON, E., RIDDERSTRALE, M., LAURILA, E., HOUSTIS, N., DALY, M. J., PATTERSON, N., MESIROV, J. P., GOLUB, T. R., TAMAYO, P., SPIEGELMAN, B., LANDER, E. S., HIRSCHHORN, J. N., ALTSHULER, D. & GROOP, L. C. 2003. PGC-1alpha-responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nat Genet*, 34, 267-73.
- NABBEN, M., HOEKS, J., BRIEDE, J. J., GLATZ, J. F., MOONEN-KORNIPS, E., HESSELINK, M. K. & SCHRAUWEN, P. 2008. The effect of UCP3 overexpression on mitochondrial ROS production in skeletal muscle of young versus aged mice. *FEBS Lett*, 582, 4147-52.

- ORTEGA, F. B., RUIZ, J. R., CASTILLO, M. J. & SJOSTROM, M. 2007. Physical fitness in childhood and adolescence: a powerful marker of health. *Int J Obes*, 32, 1-11.
- PAPAKONSTANTINO, E., FLATT, W. P., HUTH, P. J. & HARRIS, R. B. 2003. High dietary calcium reduces body fat content, digestibility of fat, and serum vitamin D in rats. *Obes Res*, 11, 387-94.
- PETTE, D., PEUKER, H. & STARON, R. S. 1999. The impact of biochemical methods for single muscle fibre analysis. *Acta Physiol Scand*, 166, 261-77.
- PETTE, D. & STARON, R. S. 1997. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *Int Rev Cytol*, 170, 143-223.
- PHAN, C. T. & TSO, P. 2001. Intestinal lipid absorption and transport. *Front Biosci*, 6, D299-319.
- PINHEIRO VOLP, A. C., ESTEVES DE OLIVEIRA, F. C., DUARTE MOREIRA ALVES, R., ESTEVES, E. A. & BRESSAN, J. 2011. Energy expenditure: components and evaluation methods. *Nutr Hosp*, 26, 430-40.
- POWERS, S. K., JI, L. L., KAVAZIS, A. N. & JACKSON, M. J. 2011. Reactive oxygen species: impact on skeletal muscle. *Compr Physiol*, 1, 941-69.
- QUINLAN, K. G., SETO, J. T., TURNER, N., VANDEBROUCK, A., FLOETENMEYER, M., MACARTHUR, D. G., RAFTERY, J. M., LEK, M., YANG, N., PARTON, R. G., COONEY, G. J. & NORTH, K. N. 2010. Alpha-actinin-3 deficiency results in reduced glycogen phosphorylase activity and altered calcium handling in skeletal muscle. *Hum Mol Genet*, 19, 1335-46.
- REID, M. B. 2001. Invited Review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *J Appl Physiol* (1985), 90, 724-31.
- REUTER, T. Y. 2007. Diet-induced models for obesity and type 2 diabetes. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 4, 3-8.
- ROSEN, E. D., SARRAF, P., TROY, A. E., BRADWIN, G., MOORE, K., MILSTONE, D. S., SPIEGELMAN, B. M. & MORTENSEN, R. M. 1999. PPAR gamma is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro. *Mol Cell*, 4, 611-7.

- RUSSELL, A. P., FEILCHENFELDT, J., SCHREIBER, S., PRAZ, M., CRETENAND, A., GOBELET, C., MEIER, C. A., BELL, D. R., KRALLI, A., GIACOBINO, J. P. & DERIAZ, O. 2003. Endurance training in humans leads to fiber type-specific increases in levels of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 and peroxisome proliferator-activated receptor-alpha in skeletal muscle. *Diabetes*, 52, 2874-81.
- SAMUEL, V. T. & SHULMAN, G. I. 2012. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell*, 148, 852-71.
- SCARDA, A., FRANZIN, C., MILAN, G., SANNA, M., DAL PRA, C., PAGANO, C., BOLDRI, L., PICCOLI, M., TREVELLIN, E., GRANZOTTO, M., GAMBA, P., FEDERSPIL, G., DE COPPI, P. & VETTOR, R. 2010. Increased adipogenic conversion of muscle satellite cells in obese Zucker rats. *Int J Obes (Lond)*, 34, 1319-27.
- SCHRAUWEN, P., HOPPELER, H., BILLETER, R., BAKKER, A. H. & PENDERGAST, D. R. 2001. Fiber type dependent upregulation of human skeletal muscle UCP2 and UCP3 mRNA expression by high-fat diet. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 25, 449-56.
- SCHRAUWEN, P., SCHRAUWEN-HINDERLING, V., HOEKS, J. & HESSELINK, M. K. 2010. Mitochondrial dysfunction and lipotoxicity. *Biochim Biophys Acta*, 1801, 266-71.
- SCOTT, W., STEVENS, J. & BINDER-MACLEOD, S. A. 2001. Human Skeletal Muscle Fiber Type Classifications. *Physical Therapy*, 81, 1810-1816.
- SEGAL, S. S. & FAULKNER, J. A. 1985. Temperature-dependent physiological stability of rat skeletal muscle in vitro. *Am J Physiol*, 248, C265-70.
- SENGUPTA, P. 2013. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med*, 4, 624-30.
- SO, M., GAIDHU, M. P., MAGHDOORI, B. & CEDDIA, R. B. 2011. Analysis of time-dependent adaptations in whole-body energy balance in obesity induced by high-fat diet in rats. *Lipids Health Dis*, 10, 99.
- SONG, S., ANDRIKOPOULOS, S., FILIPPIS, C., THORBURN, A. W., KHAN, D. & PROIETTO, J. 2001. Mechanism of fat-induced

- hepatic gluconeogenesis: effect of metformin. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 281, E275-82.
- SPARKS, L. M., XIE, H., KOZA, R. A., MYNATT, R., HULVER, M. W., BRAY, G. A. & SMITH, S. R. 2005. A high-fat diet coordinately downregulates genes required for mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle. *Diabetes*, 54, 1926-33.
- STARKEY, J. D., YAMAMOTO, M., YAMAMOTO, S. & GOLDHAMER, D. J. 2011. Skeletal muscle satellite cells are committed to myogenesis and do not spontaneously adopt nonmyogenic fates. *J Histochem Cytochem*, 59, 33-46.
- STARON, R. S. & PETTE, D. 1986. Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in rabbit muscle fibers. *Histochemistry*, 86, 19-23.
- STEINBACHER, P. & ECKL, P. 2015. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules*, 5, 356-77.
- SUZUKI, H., KAWARABAYASI, Y., KONDO, J., ABE, T., NISHIKAWA, K., KIMURA, S., HASHIMOTO, T. & YAMAMOTO, T. 1990. Structure and regulation of rat long-chain acyl-CoA synthetase. *J Biol Chem*, 265, 8681-5.
- TANNER, C. J., BARAKAT, H. A., DOHM, G. L., PORIES, W. J., MACDONALD, K. G., CUNNINGHAM, P. R., SWANSON, M. S. & HOUMARD, J. A. 2002. Muscle fiber type is associated with obesity and weight loss. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 282, E1191-6.
- TAPPY, L. 1996. Thermic effect of food and sympathetic nervous system activity in humans. *Reprod Nutr Dev*, 36, 391-7.
- TEBOUL, L., GAILLARD, D., STACCINI, L., INADERA, H., AMRI, E. Z. & GRIMALDI, P. A. 1995. Thiazolidinediones and fatty acids convert myogenic cells into adipose-like cells. *J Biol Chem*, 270, 28183-7.
- TIMMONS, J. A., WENNMALM, K., LARSSON, O., WALDEN, T. B., LASSMANN, T., PETROVIC, N., HAMILTON, D. L., GIMENO, R. E., WAHLESTEDT, C., BAAR, K., NEDERGAARD, J. & CANNON, B. 2007. Myogenic gene expression signature

- establishes that brown and white adipocytes originate from distinct cell lineages. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104, 4401-6.
- TRAJCEVSKI, K. E., O'NEILL, H. M., WANG, D. C., THOMAS, M. M., AL-SAJEE, D., STEINBERG, G. R., CEDDIA, R. B. & HAWKE, T. J. 2013. Enhanced lipid oxidation and maintenance of muscle insulin sensitivity despite glucose intolerance in a diet-induced obesity mouse model. *PLoS One*, 8, e71747.
- TSCHOP, M., SMILEY, D. L. & HEIMAN, M. L. 2000. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, 407, 908-13.
- TURNER, N., BRUCE, C. R., BEALE, S. M., HOEHN, K. L., SO, T., ROLPH, M. S. & COONEY, G. J. 2007. Excess lipid availability increases mitochondrial fatty acid oxidative capacity in muscle: evidence against a role for reduced fatty acid oxidation in lipid-induced insulin resistance in rodents. *Diabetes*, 56, 2085-92.
- VEGA, R. B., HUSS, J. M. & KELLY, D. P. 2000. The coactivator PGC-1 cooperates with peroxisome proliferator-activated receptor alpha in transcriptional control of nuclear genes encoding mitochondrial fatty acid oxidation enzymes. *Mol Cell Biol*, 20, 1868-76.
- WAHLI, W., BRAISSANT, O. & DESVERGNE, B. 1995. Peroxisome proliferator activated receptors: transcriptional regulators of adipogenesis, lipid metabolism and more. *Chem Biol*, 2, 261-6.
- WANG, K. & WRIGHT, J. 1988. Architecture of the sarcomere matrix of skeletal muscle: immunoelectron microscopic evidence that suggests a set of parallel inextensible nebulin filaments anchored at the Z line. *J Cell Biol*, 107, 2199-212.
- WILKES, J. J., BONEN, A. & BELL, R. C. 1998. A modified high-fat diet induces insulin resistance in rat skeletal muscle but not adipocytes. *Am J Physiol*, 275, E679-86.
- WILSON, J. M., LOENNEKE, J. P., JO, E., WILSON, G. J., ZOURDOS, M. C. & KIM, J. S. 2012. The effects of endurance, strength, and power training on muscle fiber type shifting. *J Strength Cond Res*, 26, 1724-9.
- YAMADA, T., MISHIMA, T., SAKAMOTO, M., SUGIYAMA, M., MATSUNAGA, S. & WADA, M. 2006. Oxidation of myosin heavy chain and reduction in force production in hyperthyroid rat soleus. *J Appl Physiol* (1985), 100, 1520-6.

- YOUNGREN, J. F., PAIK, J. & BARNARD, R. J. 2001. Impaired insulin-receptor autophosphorylation is an early defect in fat-fed, insulin-resistant rats. *J Appl Physiol* (1985), 91, 2240-7.
- YU, C., CHEN, Y., CLINE, G. W., ZHANG, D., ZONG, H., WANG, Y., BERGERON, R., KIM, J. K., CUSHMAN, S. W., COONEY, G. J., ATCHESON, B., WHITE, M. F., KRAEGEN, E. W. & SHULMAN, G. I. 2002. Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem*, 277, 50230-6.
- ZHANG, M., KOISHI, K. & MCLENNAN, I. S. 1998. Skeletal muscle fibre types: detection methods and embryonic determinants. *Histol Histopathol*, 13, 201-7.
- ZIMMERMANN, R., STRAUSS, J. G., HAEMMERLE, G., SCHOISWOHL, G., BIRNER-GRUENBERGER, R., RIEDERER, M., LASS, A., NEUBERGER, G., EISENHABER, F., HERMETTER, A. & ZECHNER, R. 2004. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science*, 306, 1383-6.
- ZUO, L., NOGUEIRA, L. & HOGAN, M. C. 2011. Effect of pulmonary TNF-alpha overexpression on mouse isolated skeletal muscle function. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 301, R1025-31.